Postverlagsort Berlin

FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

UNTER MITWIRKUNG DER FACHGRUPPE ANALYTISCHE CHEMIE
DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER
VERTRETEN DURCH
H. KIENITZ W. KOCH H. LUTHER H. SPECKER

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

164. BAND, 2. HEFT
MIT 16 ABBILDUNGEN IM TEXT
(ABGESCHLOSSEN AM 4. NOVEMBER 1958)

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1958

Z. analyt. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*. Bis Band 59 (1919) Wiesbaden, C.W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C.W. Kreidel, und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30
Fernsprecher 27901
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3
Fernsprecher 830301

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 440535

Band 164 — Heft 2

Inhaltsverzeichnis

Originalabhandlungen

Seite

Singewald, A., Zur Farbreaktion von Anhydrobisindandion (Mikrobestimmung von Fettaminen bei der Kalisalz-Aufbereitung). Mit 6 Textabbildungen 219

Bode, H., und H. Mösenthin, Ein Verfahren zur photometrischen Bestimmung von Selen. Mit 2 Textabbildungen 232

Pilz, W., Die Bestimmung des Pflanzenschutzmittels Metasystox-i. I. Mitteilung. Die Gehaltsbestimmung in technischen Produkten und Formulierungen 241

Lipčinsky, A., und M. Krstewa, Quantitative Bestimmung des Bleis nach dem Verfahren der Oxydations-Innerelektrolyse durch anodische Abscheidung als Blei(IV)-oxyd. Mit 2 Textabbildungen 246

Xavier, J., 2-Mercaptobenzimidazole (2-Benzimidazolethiol) as a Colorimetric Reagent for Palladium. With 3 Figures in the Text 250

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Flotationsentwicklungslabor der Wintershall AG, Werk Neuhof bei Fulda

Zur Farbreaktion von Anhydrobisindandion

Mikrobestimmung von Fettaminen bei der Kalisalz-Aufbereitung

Von

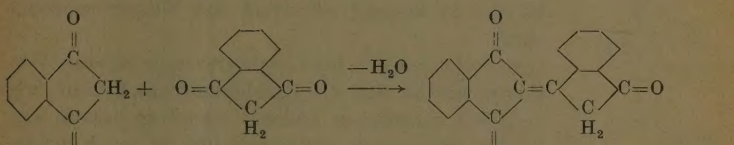
A. SINGEWALD

Mit 6 Textabbildungen

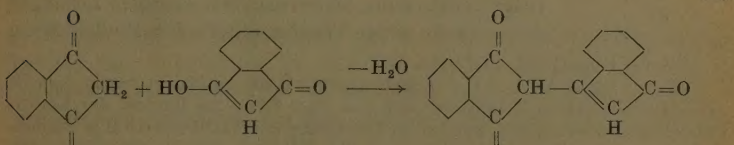
(Eingegangen am 12. Juli 1958)

Primäre aliphatische Amine der Fettsäurereihe haben als kationenaktive Sammler in den letzten Jahren erhebliche technische Bedeutung bei der Flotation von Kalirohsalzen erlangt. Um hierbei Vorgänge der Grenzflächenadsorption dieser Reagentien an Kristallen der Alkalihalogenide aufklären zu können, suchten wir eine genügend empfindliche Methode zur Bestimmung von R-NH_2-Mikromengen. Einige bisher nur als qualitative Nachweise bekannte analytische Verfahren wurden überprüft, ob sie sich für quantitative Zwecke verfeinern ließen. So gelang es, besonders aus der Reaktion primärer Amine mit Anhydrobisindandion eine colorimetrische Schnellmethode zu entwickeln, über deren praktische Anwendung in Kaliflotationsbetrieben und in der Flotationsforschung an anderer Stelle ausführlich berichtet wird[7,8]. Im nachfolgenden soll das Verhalten von Anhydrobisindandion (auch abgekürzt „Bindon" genannt) bzw. das seiner Verwandten gegen primäre aliphatische Amine der Fettsäurereihe geschildert werden.

In der Literatur findet man für das von W. WISLICENUS u. A. KÖTZLE[12] durch Wasserabspaltung beim Kochen von Indandion entdeckte Bindon keine eindeutige Strukturangabe. Auch im BEILSTEIN sind zwei Stereoisomere aufgeführt, die hier mit (A) und (B) benannt seien. Die

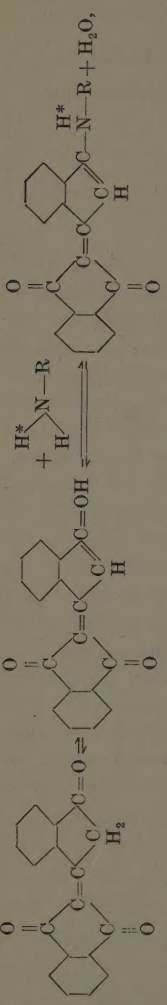


(I) (I) (A)



(I) (I′) (B)

Entstehung von (A) oder (B) ist offenbar abhängig vom Grad der Enolisierung des zu kondensierenden Indandions (I und I').



Aufbauend auf der Entdeckung von C. LIEBERMANN[4], daß Bindon mit primären aromatischen Basen bei etwa halbstündigem Erhitzen in Eisessig Blaufärbungen liefert, hat G. WANAG[10,11] die von ihm festgestellten unterschiedlichen Farbreaktionen von Bindon (mit Pyridinen: rot; mit prim. aliphat. Aminen: violett; mit prim. aromat. Basen: blau) zur qualitativen Unterscheidung der verschiedensten Basen verwendet, indem er diese mit Bindon in Eisessig kondensierte (Erfassungsgrenze bis herab zu etwa 50 mg/l^{-1}):

$$C_{18}H_{10}O_3 + R{-}NH_2 \rightleftharpoons C_{18}H_{10}O_2N{-}R + H_2O.$$

W. WISLICENUS u. H. SCHNECK[14] folgern, daß diese Kondensationsreaktion des Bindons nur über die Enolform erfolgen könne, zumal auch mit sekundären Aminen (z. B. Methylanilin) Färbungen zu erhalten sind (vgl. nebenstehende Reaktionsgleichung).

Nach diesen Autoren scheint der Entstehung der blauen Abkömmlinge des Bindons stets eine Salzbildung bzw. Umlagerung des Moleküls in die Enolform vorauszugehen, die sich durch die schöne rote Farbe des Bindonsalzes anzeigt, ehe beim Kochen die Blaufärbung (unter Kondensation) auftritt**. Offenbar ist das tertiäre Dimethylanilin nicht mehr in der Lage nach Art der prim. oder sek. Amine zu kondensieren und vermag daher nur noch eine rote Farbe zu erzeugen; ähnlich verhält sich auch Pyridin (das ja ebenfalls nicht mehr kuppeln kann). Nach WANAG wird zwischen Pyridin und Bindon eine charakteristische rote Farbe erhalten, wenn nach dem gemeinsamen Kochen in Eisessig sehr stark mit Wasser verdünnt wird.

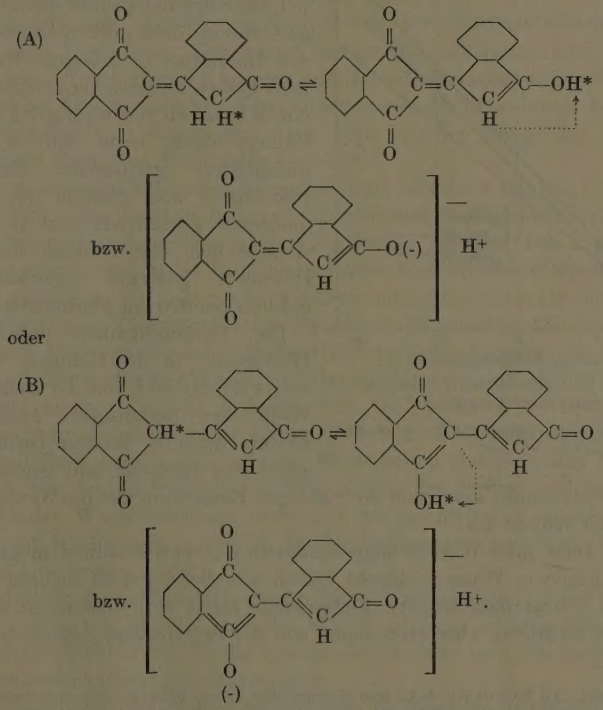
Es stellt sich nun interessanterweise in eigenen Versuchen heraus, daß die Farbbildung mit Pyridin, wie auch mit zahlreichen anderen irgendwie basisch wirkenden Substanzen schlagartig und in der Kälte erzeugt werden kann, sofern man den wäßrigen Lösungen dieser Stoffe einige Tropfen ätherischer Bindonlösung

* wobei H auch CH_3 sein kann.

** Zuvor hatten WISLICENUS u. REITZENSTEIN[13] die Ansicht vertreten, daß die „prachtvoll gefärbten Metallsalze" sich von einer Säure des Bindons der Konstitution (B) ableiten müßten, weil bei der Umsetzung mit NaOH nur ein H je Bindonmolekül ausgetauscht würde.

zufügt. Der für diese Farbbildung gerade noch zulässige p_H-Wert liegt bei $\geq 4{,}5$, während im stärker sauren Gebiet die rote Farbe nach Gelb umschlägt. Somit verhält sich Bindon wie ein saurer Indicator.

Gleichgültig ob man die Ketoform (A) oder (B) in Betracht zieht, so sind stets die beiden grundsätzlich jede Enolisierung steuernden Voraussetzungen im Molekülbau des Anhydrobisindandions vorzüglich erfüllt: Einerseits ist der im Bestreben zur Konjugation sich auswirkende elektromere Effekt der Elektronenverschiebung vorhanden und führt zur Umlagerung von Doppelbildungen; zum anderen herrscht eine ausgesprochene Prototropie, d. h. es liegt eine durch die acidifizierende Carbonylgruppe bewirkte Lockerung eines H-Atoms innerhalb des Moleküls vor:



Besteht nun die Möglichkeit, dieses acidifizierte H* (unter Zurücklassung seines Elektrons im Molekül) als Proton durch irgendeinen Protonacceptor abzufangen, so kann sich die Enolisierung vollziehen, wonach sich schließlich aus dem negativen Komplex und dem Kation des Acceptors ein sog. Salz des Enols zu bilden vermag.

Beispiele: Reaktion des Bind*ons* [c = o] zum E*nol* [c — o]$^-$

1. m. Alkali: $[c = o] + K^+ OH^- \rightleftharpoons [c — o]^- K^+ + H_2O$
2. m. Aminen: $[c — o] + R — NH_2 \downarrow + H_2O$
$[R — NH_3]^+ OH^- \rightleftharpoons [c — o]^- R — NH_3^+ + H_2O.$

Die letzte zwischen Anhydrobisindandion und Aminen unter bestimmten Bedingungen sich schlagartig vollziehende Reaktion kann nun zu einem äußerst empfindlichen Nachweis für aliphatische Fettamine gestaltet werden. Es gelingt beispielsweise, bei der Kalisalzflotation adsorbierte Aminmengen noch bis herab zu 1—2 μg Amin je Gramm Alkalisalz oder in den Flotationstrüben noch bis zu 0,05—0,1 mg Amin je Liter Salzlauge *quantitativ* und ungestört von dem großen Überschuß der Alkalisalze zu erfassen. Hierbei wird das zu untersuchende Salz mit einem Gemisch von wäßriger Pufferlösung, einem nicht mit Wasser mischbaren organischen Extraktionsmittel und Bindon versetzt, mehrmals geschüttelt und die bei Anwesenheit von Aminen rot bis rotviolett gefärbte nichtwäßrige Schicht bei 520 mμ photometriert.

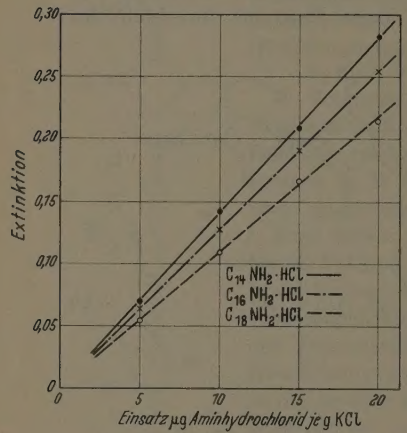


Abb. 1. Extinktionswerte für Fettamine verschiedener Kettenlängen*

* $C_{14}NH_2 \cdot HCl$ = abgekürzt für Tetradecylamin $C_{14}H_{29}NH_2 \cdot HCl$ usw.

Die Empfindlichkeit derartiger Messungen, ja ihr Gelingen überhaupt, hängt sehr von der richtigen Wahl des organischen Lösungsmittels (nämlich seinem Verhalten gegen das Reagens und gegen das betreffende Amin) sowie von der richtigen Einstellung des p_H-Wertes der wäßrigen Schicht ab:

Das Amin muß in dem angewendeten Extraktionsmittel möglichst gut, dagegen in Wasser schlecht löslich sein (letzteres ist insbesondere bei den Fettaminen erfüllt). Andererseits sollen Störsubstanzen leicht von der wäßrigen, aber eben nicht von der organischen Schicht gelöst werden.

Beispiel: 5 g KCl (0,10—0,12 mm Korngröße), zuvor beladen mit verschiedenen Mengen der Aminhydrochloride, werden angewendet, dazu kommen 5 ml Phosphat-Citratpufferlösung p_H 6,5—7,0 und 15 ml ätherische Bindonlösung (0,2 g · l^{-1}). Das Ganze wird im Meßkölbchen mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt. Nach Abhebern der Ätherschicht wird deren Extinktion in zylindrischen 20 ml KPG-Küvetten (⌀ 25 mm) im Lange-Colorimeter VI, Grünfilter VG 9 (λ max = 510 bis 545 mμ) mit nachgeschaltetem Multiflex-Galvanometer gemessen (Abb. 1).

Mit der Beeinflussung des Bindonreagenses muß bei all denjenigen Lösungsmitteln gerechnet werden, deren Acidität geringer ist, als die des Anhydrobisindandions, besonders bei solchen mit Carbonyl- und alkoholischen Hydroxylgruppen im Molekül, von denen bereits eine Umlagerung und somit Färbung des Bindons auch ohne Anwesenheit basischer Stoffe provoziert wird. Ferner bleibt die Farbbildung aus, wenn es sich um ausgesprochen sauer reagierende Lösungsmittel handelt (z. B. Essigsäure), während unpolare Solventien (wie z. B. reine und chlorierte Kohlenwasserstoffe) meist nur das gelbe Bindon, nicht aber das rote Bindenol aufnehmen. In reinem Wasser ist das Reagens in der Ketonform praktisch unlöslich, während bei Gegenwart von basischen Substanzen das Enol sehr gut im Wasser gelöst wird.

Gelingt es nun, störende p_H-Einflüsse in der wäßrigen Schicht (die z. B. nach thermischer Zersetzung einiger Salzmineralien beim großtechnischen Trockenprozeß hervorgerufen werden können) wegzupuffern, so wird bei Anwesenheit von Fettaminen *nur* in der organischen Schicht eine Basizität und demzufolge darin eine von der Menge des Amins abhängige Enol- und Farbbildung erzeugt.

Die nachfolgenden Tabellen geben Auskunft über das Verhalten von Bindon mit und ohne Zusätzen in den verschiedensten Lösungsmitteln (Tab. 1, S. 224/25) und im Zweiphasensystem H_2O/organ. Solvens (Tab. 2, S. 255).

Alle unter (o) und (z) der Tab. 2 bezeichneten Extraktionsmittel scheiden damit überhaupt aus; aber auch die Verwendung der mit (x) (y) und (+) bezeichneten ist für quantitative Zwecke nicht günstig. Einwandfreie und auch die empfindlichsten Meßwerte werden bei Einsatz von Äthyläther erhalten, offenbar daher, weil das Bindon in Äther sich in einem gewissen labilen Zustand befindet. Wie die Spektren in trockenem und wassergesättigtem Äther zeigen (Abb. 6, S. 230), muß nämlich im letzteren Falle bereits eine teilweise Enolisierung stattgefunden haben. Diese wirkt sich allerdings unter dem Schutz des Puffers und bei entsprechender Wassersättigung nicht auf die quantitative Aminbestimmung mit Bindon aus, sofern bei den Meßreihen stets konstante Bedingungen eingehalten werden.

Da die einzelnen Alkalisalze die Aminbestimmung nach Art und Menge etwas verfälschen können (Abb. 2a, S. 226), so ist es wichtig, diese Einflüssedurch Eichkurven für die verschiedenen Salze und für bestimmte Salzkonzentrationen zu kompensieren.

Ein entscheidender Einfluß kommt dem p_H-Wert zu, so daß mit geeigneten Puffern gearbeitet werden muß. In Abb. 2b (S. 226) zeigt die Kurve *I* an, wie die Färbung der Ätherschicht vom p_H-Wert der Pufferung abhängt. Hier wurde (entsprechend dem auf S. 222 gegebenen Beispiel) durch Ausschütteln der aminhaltigen Probelösung mit ätherischer Bindonlösung das Amin direkt extrahiert und die Farbe dieses Äther-

Tabelle 1

Färbung und Verteilung von Bindon in verschiedenen Lösungsmitteln	reines Lösungsmittel m. Bindon (ohne Zusätze)	desgl. + H_2O	Lösungsmittel m. Bindon + Aminhydrochlorid	desgl. + H_2O	Lösungsmittel m. Bindon + H_2O + NaOH
Acetaldehyd	g	g-rötl	rötl-g	g-rötl	g-rötl
Benzaldehyd	g	g	g	g	g
Methylalkohol	g-rötl	vio	vio	vio	vio
Äthylalkohol	g-rot	vio	vio	vio	vio
Amylalkohol	g-rötl	rötl	rötl-g	vio	vio
Cyclohexanol		rosa	rot	vio	vio
Phenol	g	rosa	g-(rötl)	vio	vio
Essigsäureäthylester	g u. rötl-g	g-rötl	rosa	vio	vio
Eisessig	g	g-rötl	vio	g-rötl	vio
Acetylaceton	g-rötl	g	g-rötl	vio	rot
Aceton	g	rot-g	rosa	vio	vio
Cyclohexanon	rosa	rosa	vio	vio	vio
Acetophenon	g	g	g-rötl	g-rötl	rosa
Äthyläther	g	g-rötl	rötl-g	vio	vio
Isopropyläther	g	g	g-(rötl)	rosa	vio
Isoamyläther	g	g	g	rosa	vio
Tetrahydrofuran	rötl	vio	vio	vio	vio
Dioxan	rötl	vio	rosa	vio	vio
Acetonitril	g	rosa	vio	vio	vio
Benzol	g	g	g-(rötl)	rötl-g	vio
Cyclohexan	g	g	g	g	vio
Toluol	g	g	g	g	vio
m-Xylol	g	g	g	g	vio

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Färbung und Verteilung von Bindon in verschiedenen Lösungsmitteln	reines Lösungsmittel mit Bindon (ohne Zusätze)	desgl. $+H_2O$	Lösungsmittel m. Bindon + Aminhydrochlorid	desgl. $+H_2O$	Lösungsmittel m. Bindon $+H_2O$ +NaOH
Petroläther	g	g	g	rosa	
					vio
Schwefelkohlenstoff	g		rosa		vio
		g		vio	
Tetrachlorkohlenstoff	g		g-rötl		vio
		g		vio	
Chloroform	g		rötl-g		vio
		g		g-rot	

g = gelb; rötl = rötlich; vio = violett.

Tabelle 2

oben: wäßrige Schicht unten: organ. Schicht		mischbar		oben: organ. Schicht unten: wäßrige Schicht	
(+) (y)	Chloroform	(x) (z)	Eisessig	(o)	Amylalkohol
(+) (y)	Schwefelkohlenstoff	(o)	Aceton		Äthyläther
		(o)	Methylalkohol	(o)	Äthylacetat
(+) (y)	Tetrachlorkohlenstoff	(o)	Äthylalkohol	(x)	Isopropyläther
				(x)	Benzol

(+) Farbreaktion mit freiem Amin in diesen Lösungsmitteln (Cl-, S-substit. oder reiner KW, die von sich aus kein Wasser aufzunehmen vermögen) nur dann, wenn man durch ein weiteres Lösungsmittel (Äther, Alkohol u. ähnl.) dafür sorgt, daß im ternären System etwas H_2O mit in die Extraktionsschicht gebracht wird.

(x) Farbreaktion mit Aminhydrochloriden auch nur dann, wenn Bedingung (+) erfüllt ist.

(y) Farbreaktion mit Aminhydrochloriden nur dann, wenn wenig Alkali in die wäßrige Schicht gegeben oder gepuffert wird.

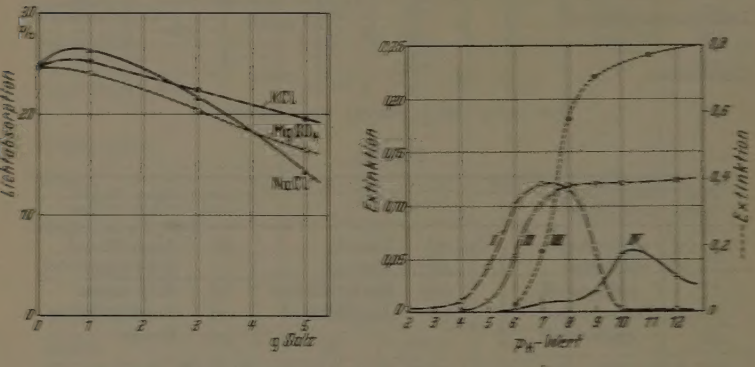
(z) Farbreaktion mit freien Aminen auch nur dann, wenn Bedingung (y) erfüllt ist.

(o) Bereits ohne jeglichen Zusatz sind Bindonlösungen (statt gelb) bei spurenweiser Gegenwart von Wasser rötlich und bei Wasserüberschuß tiefrot gefärbt*. Also dann keine spezifische Reaktion mehr auf Amine, da mit H_2O-Spuren in den zu untersuchenden Salzen stets gerechnet werden muß.

auszuges colorimetriert. Kurve *IV* veranschaulicht Meßwerte einer analogen Reihe für die Blindproben, also in Abwesenheit von Amin. Während bei *I* die durch Amine hervorgerufene Färbung der Ätherschicht bereits ab $p_H > 5$ einsetzt, zeigt die Blindprobe erst oberhalb $p > 8$—9 eine leichte Zunahme der Farbintensität. Die aminspezifische Messung ist bei $p \approx 7$ am empfindlichsten. Im extrem alkalischen Gebiet wird die

* so daß man sogar den Wassergehalt derartiger Lösungsmittel damit bestimmen kann!

wäßrige Phase (Kurve *III*) stark gefärbt, wobei gleichzeitig die Ätherschicht verblaßt. Und zwar verläßt allein das Bindonreagens die organische Phase, während das Amin darin verbleibt (Versuchsreihe *II*). Hierbei ist das Amin lediglich mit Äther (also ohne Bindonzusatz) aus den wäßrigen Probenlösungen ausgeschüttelt und daran anschließend der Amingehalt in den Extrakten nach Bindonzugabe colorimetrisch bestimmt worden. Beim Vergleich zwischen Kurven *I* und *II* ist es interessant, daß die Anwesenheit von Bindon beim Ausziehen aus den Probelösungen zwar eine kleine p_H-Verschiebung bewirkt, aber die



a b

Abb. 2a. Einfluß von Salzen auf die Bestimmung von 50 µg $C_{10}NH_9 \cdot HCl$
Abb. 2b. Wirkung des p_H-Wertes auf die Farbreaktionen des Bindons. *I* Äther + Amin + Bindon; *II* Äther + Amin; *III* Wäßrige Schicht; *IV* Äther + Bindon

extrahierte Aminmenge nicht größer ist, als wenn diese Lösungen nur mit reinem Äther ausgeschüttelt werden. Die Höhe des Extinktionsmaximums wird also durch die Löslichkeit von $R\text{-}NH_2$ in der ätherischen Schicht bestimmt und nicht durch den Komplex $[Bindenol]^-/Amin^+$ vergrößert.

Farbreaktionen der Verwandten des Bindons

Verwandte des Bindons sind daraufhin untersucht worden, ob sie sich ebenfalls, oder möglicherweise noch besser, zu Aminbestimmungen eignen. Einige von ihnen zeigen zwar weniger Störanfälligkeit gegen Schwankungen des p_H-Wertes, erweisen sich jedoch gleichzeitig damit als unempfindlicher gegen die Amine, und zwar reagieren sie um so träger, je saurer sie substituiert sind.

Isobindon fällt bei der Herstellung von Bindon als Nebenprodukt an. Es ist nicht bekannt, ob ihm die Struktur A und Bindon B zukommt bzw. umgekehrt. Offensichtlich ist das eine aus der Kondensationsreaktion zweier Ketone (A) entstanden (siehe S. 219), während beim

anderen die Enolform beteiligt sein muß (B. WANAG gibt an, bei der anschließenden Reinigung des Reaktionsproduktes das Isobindon als in wäßrigem K_2CO_3 unlösliches „grünes Kaliumsalz" zurückbehalten zu haben. Bei den eigenen Versuchen ist dagegen festgestellt worden, daß die zurückbleibenden grünen Kristallchen nur rund 1% Kalium enthalten, was offensichtlich aus dem Waschwasser stammte, während Kaliumisobindonat 12.7% K aufweisen müßte. Somit scheint der fragliche Stoff direkt das freie Isobindon zu sein, das ja auch erst mit stärkerem Alkali NaOH rotviolett in Lösung zu bringen ist, wogegen das Bindon schon

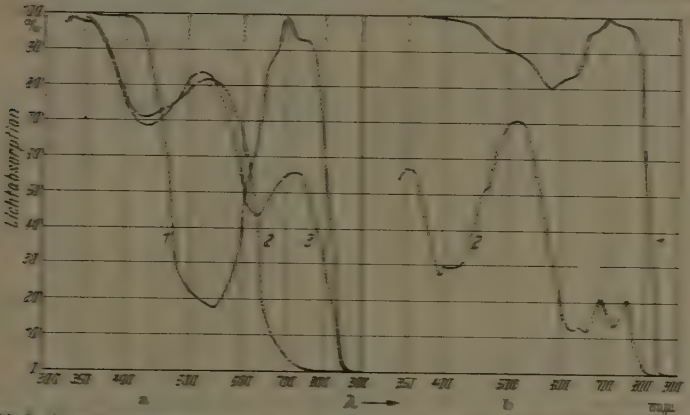
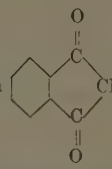


Abb. 1. Absorptionsspektren von Isobindon in Aceton (a + Alkali im unabgedunkelten Raum aufgenommen mit Beckman Spektral-Photometer Model DU; Lampe: Hg, 1 = in Dunkelheit, 2 = im unabgedunkelten, 3 = nach Einwirkung von Licht; b = in wäßrigem Alkali, 1 = in Dunkelheit, 2 = im wäßrigen Alkali mit Amin, 3 = im wäßrigen Alkali mit Amin

durch das schwach basische K_2CO_3 ein lösliches Enolat bildet, welches ebenfalls rotviolett in Lösung geht. Derjenige Stoff also, der stärker sauer ist, muß demnach das Isobindon sein. Da Isobindon in Äther unlöslich ist, läßt es sich damit von Bindonresten vollständig befreien.

In einigen anderen Lösungsmitteln z. B. Chloroform und Aceton ist Isobindon gut löslich, wobei man eine grüne Lösung erhält mit Absorptionsmaximum bei 700 mμ. Nach Einwirkung von Licht schlägt die Farbe nach Rot um; es erscheint die typische Absorption des Bindenols bei 500 mμ. Frisch in Aceton gelöstes Isobindon mit wenig Wasser versetzt ergibt eine rotgrüne Mischfarbe, die noch beide Absorptionsmaxima erkennen läßt (Abb. 3). Auf Zugabe von Aminen unter Wasserausschluß zu Isobindon-Acetonlösungen wird zunächst auch eine Mischfarbe mit starker Absorption bei 700 und 520 mμ entstehen, die jedoch, sobald dann Wasser hinzukommt, nach Rot wechselt und im Spektrum fast nur noch das der Bindon-Aminreaktion entsprechende Bindenol neben Isobindonresten 700 mμ erkennen läßt.

Vom *Indandion* als Ausgangssubstanz sowohl des Bindons als auch des Isobindons hat man für die Ketoform  (I) ein Spektrum zu erwarten, das etwa dem Anhydrobisindandion der Formel A entsprechen müßte. In der Tat zeigte das Absorptionsspektrum des Indandions in ätherischer Lösung einen dem Spektrum des gelben Bindons analogen Verlauf, so daß man für dieses tatsächlich die Struktur A annehmen könnte (Abb. 4).

Als Gegenstück hierzu erkennt man in den Spektren des Indandions in wäßrigem Aceton oder in aminhaltigem Äther (also unter Bedingungen, von denen bekannt ist, daß Bindon enolisiert wird) gleichzeitig mit dem

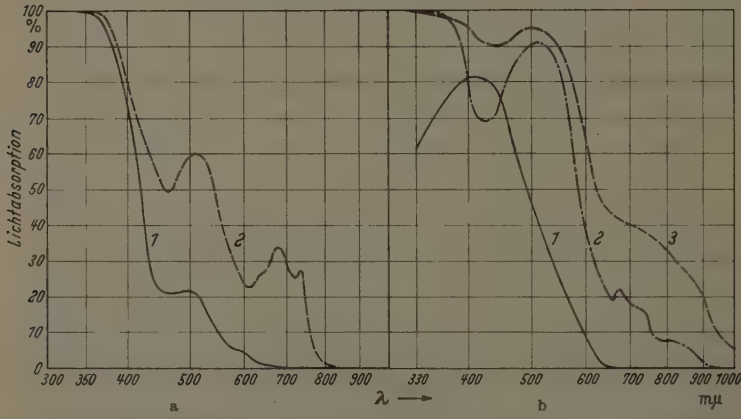


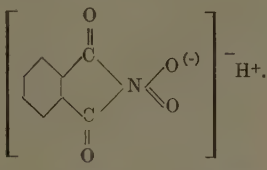
Abb. 4. Adsorptionsspektren des Indandions. a *1* in Äther + H_2O; *2* in Äther + H_2O + 200 μg Amin. b *1* in wäßrigem NaOH (kalt); *2* in wäßrigem NaOH (nach Erwärmen zum Teil ausgeflockt); *3* in Aceton

Bindenolmaximum von 520 mμ noch ein Maximum leichter bis mittlerer Stärke im Bereich von 700 mμ, so wie es sonst beim Isobindon vor der Enolisierung erhalten wird. Dies läßt sehr stark vermuten, daß bei der schon in der Literatur erwähnten Neigung des Indandions in einigen Lösungsmitteln sich zu dimerisieren, nun unter Einfluß der enolisierenden Substanzen zunächst eine teilweise Umlagerung und dann Dimerisierung unter Bildung von Isobindon erfolgt. Letzterem wäre somit tatsächlich die Struktur B zuzuordnen*. In verdünnten wäßrig-alkalischen

* Zur Sicherung dieses Befundes sind noch verfeinerte Untersuchungen notwendig, die aber über das Ziel der vorliegenden Arbeit hinausgehen.

Lösungen geschieht mit Indandion in der Kälte zunächst nichts; nach leichtem Erwärmen ist auch hier eine kleine Absorptionsspitze bei 700 mμ zu erkennen, jedoch scheint dann schnell eine allgemeine Polymerisation fortzuschreiten, so daß nach kurzer Zeit Flockung eintritt.

Nitroindandion (unlöslich in Äther, löslich in Alkali und Aceton) gibt keine Farbreaktionen. Nach A. Hantsch u. J. Zortmann[3] soll es völlig in die Aciform der Ketonitrosäure umgelagert sein:



und kann demzufolge kein Enolat und auch keine Färbung geben.

Methylbindon verhält sich von den all hier aufgezählten Substanzen dem Bindon am ähnlichsten, wenngleich es auch nicht mehr ganz so

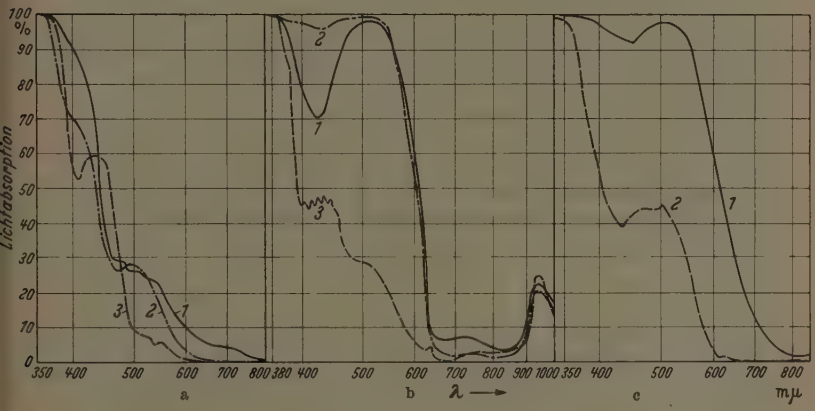


Abb. 5. Absorptionsspektren von Bindon und Abkömmlingen in Aceton. a *in trockenem Aceton: 1* Bindon; *2* Methylbindon; *3* Brommethylbindon. b *in mit H_2O gesättigtem Aceton: 1* Bindon; *2* Methylindon; *3* Brommethylbindon. c *in trockenem Aceton: 1* Bindon + 150 μg Amin; *2* Brommethylbindon + 2500 μg Amin

empfindlich ist wie dieses. Als noch viel träger erweist sich *Brommethylbindon*, welches durch Einwirken von Br_2 auf Methylbindon hergestellt worden ist, und offensichtlich dadurch stärker sauren Charakter erhält, womit es bei weitem nicht mehr so anspricht wie das unsubstituierte Bindon selbst (Abb. 5).

Diese Spektren lassen gut erkennen, daß Bindon mit dem beweglichsten Proton die für die Aminbestimmung geeignetste aller hier aufgeführten Substanzen ist. Während noch in trockenem Äther die Bindonkurve völlig glatt fallend verläuft, deutet sich in wäßrigem Äther

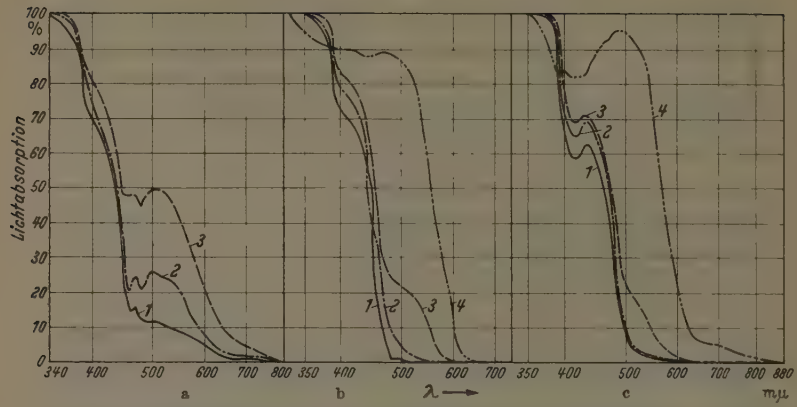
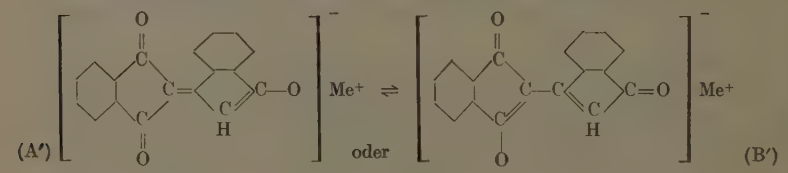


Abb. 6. Absorptionsspektren in Äther. a *Bindon: 1* ohne Zusatz; *2* mit H_2O-Überschuß; *3* mit H_2O und 60 μg Amin. b *Methylbindon: 1* ohne Zusatz; *2* mit H_2O; *3* mit H_2O und 200 μg Amin; *4* mit H_2O und Aminüberschuß. c *Brom-methylbindon: 1* ohne Zusatz; *2* mit H_2O; *3* mit H_2O und 200 μg Amin; *4* mit H_2O und Aminüberschuß

bereits eine leichte Absorption um 520 mμ an, die auf die geringsten Aminzusätze dann stark zunimmt (Abb. 6).

Leider reichen die zahlreichen mit diesen Substanzen vorgenommenen Untersuchungen nicht aus, um zu entscheiden, ob das mit Alkalien bzw. Aminen (Me^+) erzeugte farbige Enolat nun von der Struktur



ist.

Es ist möglich, daß in Lösungen zwischen beiden Grenzformen ein mesomerer Wechselzustand vorliegt, der sich dann in der gleichen Farbe und dem übereinstimmenden Spektrum der Enolate äußert, gleichgültig ob diese nun aus Bindon oder Isobindon erhalten werden.

Zusammenfassung

Eine neue Analysenmethode zur quantitativen Bestimmung von μg-Mengen primärer aliphatischer Amine (insbesondere der bei der technischen Kalisalz-Flotation verwendeten Fettamine) bei gleichzeitiger Anwesenheit eines großen Überschusses von Alkali- oder Erdalkalisalzen mittels Anhydrobisindandion wird beschrieben; die theoretische Grundlage der Reaktion wird erörtert. Hierbei zeigt sich, daß die aus einem relativ unempfindlichen qualitativen Farbeffekt entwickelte

Methode im Grunde nicht auf einer spezifischen Umsetzung zwischen Amin und Reagens im Sinne einer Verbindungsbildung — etwa wie z. B. bei der Kupplung zweier Ninhydrinmoleküle durch *Amino-N* — beruht, sondern daß es sich um eine mit Farbumschlag verbundene p_H-abhängige Tautomerie handelt, das Bindon sich also wie ein Indicator verhält. Es müssen die Untersuchungsbedingungen sorgfältig auf die Eigenschaften des Reagenses, der nachzuweisenden Amine und etwaiger Störsubstanzen abgestimmt werden, um eine empfindliche und einwandfreie Bestimmung zu gewährleisten. Hierfür hat sich ein Zweiphasensystem aus Wasser und einem schwer-(bzw. nicht-)wasserlöslichen, organischen Lösungsmittel als geeignet erwiesen. Im hier beschriebenen Falle beruht die Spezifität im wesentlichen auf der selektiven Ätherlöslichkeit der kationaktiven, langkettigen Amine. Diese entfalten als Protonenacceptoren in der nicht wäßrigen Phase eine sogenannte scheinbare Basizität, welche die Enolform des Indicators induziert und so in der organischen Extraktionsschicht eine Färbung erzeugt. Diese Färbung ist abhängig von der Menge des Amines, gehorcht dem Beerschen Gesetz und läßt sich leicht photometrieren. Gleichzeitig anwesende anorganische Salze und besonders unter diesen etwaige alkalisch wirkende Substanzen werden in der wäßrigen Schicht gelöst und hierin durch die Wirkung eines Puffergemisches abgefangen. Grundsätzlich scheint das Anhydrobisindandion einem Verteilungssatz zu folgen, der der van t'Hoff-Dimrothschen Beziehung über die Verteilung der Keto- und Enolform in zwei verschiedenen Medien analog ist. Das Bindenol ist dabei stets in derjenigen Flüssigkeit anzutreffen, welche die größere Basizität aufweist.

Das Verhalten von Anhydrobisindandion ist vergleichbar mit einer Anzahl anderer Indicatoren, für die in jüngster Zeit ebenfalls in Zweiphasensystemen die Anwendungsmöglichkeit zur Bestimmung zahlreicher amphiphatischer Substanzen beschrieben worden ist[1,2,5,6,9]. Über diese als „Amphi-Indicatoren" benannten Reagentien und ihre Brauchbarkeit zur Aminbestimmung — speziell wiederum der im Kalisalz-Aufbereitungsprozeß an Alkali- und Erdalkalisalzen adsorbierten oberflächenaktiven Flotationsmittel auf Fettaminbasis — wird in einer gesonderten Arbeit berichtet werden[8].

Ich danke der Wintershall AG, Kassel, und dem Kaliforschungsinstitut, Hannover, für die Unterstützung dieser Arbeit und die Genehmigung zur Veröffentlichung.

Literatur

[1] Bouilloux, G.: Bull. Soc. chim. France **1954**, 1347. — [2] Few, A. V., u. R. H. Ottewill: J. Colloid Sci. **11**, 34 (1956); vgl. diese Z. **153**, 382 (1956). — [3] Hantsch, A., u. J. Zortmann: Liebigs Ann. Chem. **392**, 323 (1912). — [4] Liebermann, C.: Ber. dtsch. Chem. Ges. **30**, 3137 (1897). — [5] Milun, A., u. F. Moyer: Analyt. Chemistry **28**, 1204 (1956); vgl. diese Z. **155**, 455 (1957). — [6] Mukerjee, P.: Analyt. Chemistry

28, 870 (1956); vgl. diese Z. **155**, 155 (1957). — [7] Singewald, A.: Diss. T. U. Berlin-Charlottenburg, Druck Kaliforschungsanst. Hannover (1957). — [8] Singewald, A.: Kali u. Steinsalz, im Druck. — [9] Thomis, G. N., u. A. Z. Kotionis: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **14**, 11, 457 (1956); vgl. diese Z. **154**, 47 (1957); **156**, 217 (1957). — [10] Wanag, G.: Ber. dtsch. chem. Ges. **66**, 1679 (1933); **68**, 408 (1935); **69**, 189, 1066 (1936); vgl. diese Z. **113**, 21 (1938); **119**, 413 (1940). — [11] Wanag, G., u. A. Lode: Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 547 (1937). — [12] Wislicenus, W., u. A. Kötzle: Liebigs Ann. Chem. **252**, 76 (1889). — [13] Wislicenus, W., u. F. Reitzenstein: Liebigs Ann. Chem. **277**, 362 (1893). — [14] Wislicenus, W., u. H. Schneck: Ber. dtsch. chem. Ges. **50**, 189 (1917).

Dr.-Ing. Arno Singewald, Neuhof (Kreis Fulda), Am Herrenacker 237

Aus dem anorganisch-chemischen Institut der Technischen Hochschule Hannover

Ein Verfahren zur photometrischen Bestimmung von Selen

Von
Helmut Bode und **Heinz Mösenthin**

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. Juni 1958)

Geilmann u. Wrigge[6] haben gezeigt, daß aus neutralen oder schwach sauren Lösungen, die zweiwertiges Kupfer und vierwertiges Selen enthalten, durch SO_2 je nach den Versuchsbedingungen Cu_2Se, CuSe oder Gemische beider Verbindungen ausgefällt werden können und daß die präparative Darstellung beider Kupferselenide auf diesem Wege möglich ist. Dabei hängt die Zusammensetzung der bei der Reduktion erhaltenen Niederschläge sowohl vom Mengenverhältnis Cu : Se in der Lösung, als auch vom p_H-Wert ab. Eine Zunahme der H-Ionenkonzentration bewirkt unter sonst gleichen Bedingungen eine Verkleinerung des Verhältnisses Cu : Se im Niederschlag und umgekehrt; aus mineralsauren Lösungen fällt schließlich nur Selen, während aus alkalischen Lösungen Cu_2O niedergeschlagen wird. Um reines CuSe oder Cu_2Se zu erhalten, ist die Einhaltung genau definierter Arbeitsbedingungen erforderlich. Eine Vorschrift zur präparativen Darstellung von Cu_2Se durch gleichzeitige Reduktion von Cu^{II} und Se^{IV} geben auch Hahn u. Mitarb.[8].

Falls es möglich ist, auch kleine Selenmengen in entsprechender Weise quantitativ in ein formelgerecht zusammengesetztes Kupferselenid zu überführen, so sollte sich unter Ausnutzung dieser Reaktion ein indirektes photometrisches Verfahren zur Selenbestimmung entwickeln lassen, denn die exakte Bestimmung kleiner Mengen Kupfer

bereitet keine Schwierigkeiten. Da die Zahl der photometrischen Bestimmungsverfahren für Selen gering ist[4,5,10], kann auch ein indirektes Verfahren unter Umständen erwünscht sein.

Auf Grund von Ergebnissen, die an ansgedehnten Versuchsreihen gewonnen sind und die nicht alle im einzelnen mitgeteilt werden sollen, ist folgende *Arbeitsvorschrift* aufgestellt worden, die für die Bestimmung von 5—100 μg Selen geeignet ist.

Reagentien

a) Gepufferte Kupferlösung. 5,0 g Citronensäuremonohydrat und 400 mg $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$ werden in Wasser gelöst. Durch Zugeben von konz. Ammoniaklösung und Wasser in geeigneten Mengen stellt man eine Lösung von p_H 4,5 und einem Volumen von 100 ml her.

b) Hydroxylaminsulfatlösung. 10,0 g Hydroxylaminsulfat werden mit Wasser zu 100 ml gelöst.

c) Methanol.

d) Salpetersäure, D 1,4.

e) Diäthylammonium-diäthyldithiocarbaminatlösung. 400 mg Diäthylammoniumdiäthyldithiocarbaminat werden mit CCl_4 zu 1 l gelöst. (Das Reagens stellt man her durch Eingießen einer 2 m Lösung von CS_2 in Äther zum gleichen Volumen einer 5 m Lösung von Diäthylamin in Äther. Dabei muß gekühlt werden. Das ausfallende farblose Salz kann aus Äther umkristallisiert werden. CCl_4 wird nach[1] gereinigt und aufgearbeitet.)

Bestimmung

Die in einem 25 ml- oder 50 ml-Erlenmeyer-Kolben befindliche neutrale Probelösung, die Selen als Se^{IV} enthalten muß, wird auf je 10 ml Lösung mit 5 ml der gepufferten Kupferlösung und 1 ml der Hydroxylaminsulfatlösung versetzt. Man gibt ein etwa 4 mm langes Stückchen eines Magnesiastäbchens hinzu, um ein Auftreten von Siedeverzügen zu verhindern, setzt in die Öffnung des Kolbens einen kleinen Trichter, wodurch Verluste durch Spritzen der Lösung weitgehend ausgeschlossen werden, erhitzt die Lösung und läßt 3 min sieden. Nach kurzem Abkühlen spritzt man Trichter und Wände des Reaktionsgefäßes mit wenigen Millilitern Methanol ab. Ohne weiteres Abkühlen abzuwarten wird die Flüssigkeit durch ein Mikro-Filterstäbchen der Porenweite G 4 (Schott und Gen., Mainz) abgesaugt, wobei der Niederschlag fast quantitativ auf die Fritte gelangt. Dann wäscht man Fällungsgefäß und Fritte zunächst mit 3 ml Wasser, anschließend mehrfach mit insgesamt etwa 30 ml Methanol und zum Schluß mit 1—3 ml Wasser; dabei werden die einzelnen Portionen der Waschflüssigkeit jedesmal möglichst vollständig abgesaugt.

Nun wird das Filterstäbchen von der Absaugvorrichtung gelöst und in das Fällungsgefäß gegeben. Unter gelindem Erwärmen löst man den Kupferselenidniederschlag mit 1,0 ml Salpetersäure. Das Filterstäbchen wird herausgenommen und sorgfältig mit Wasser gewaschen, das man im Fällungsgefäß auffängt; beim Waschen ist das Filterstäbchen 2—3 mal mit Wasser zu füllen, das man dann z. B. mit Hilfe eines Gummidruckballes durch die Fritte drückt. Die wäßrige salpetersaure Lösung soll bei Beendigung des Waschens ein Volumen von wenigstens 25 ml haben. Man bringt sie unter Nachwaschen mit Wasser quantitativ in einen 100 ml Scheidetrichter, in den man vorher 25,0 ml diäthylammonium-diäthyldithiocarbaminathaltigen CCl_4 gegeben hat, schüttelt 2 min, filtriert die organische Phase durch ein kleines trockenes Papierfilter in eine Küvette und mißt die Extinktion

bei 436 mμ oder unter Verwendung eines Filters mit einem Durchlässigkeitsschwerpunkt bei 436 mμ gegen CCl_4 als Vergleichslösung. Verwendet man 20 mm-Küvetten, so können 5—40 μg Selen bestimmt werden.

Messungen werden unter Verwendung einer in gleicher Weise mit bekannten Selenmengen hergestellten Eichkurve ausgewertet.

Mit reinen Selenlösungen wurden nach dieser Arbeitsvorschrift die in Tab. 1 angeführten Ergebnisse erhalten.

Tabelle 1

Bestimmung des Selens über Cu_2Se beim Arbeiten mit reinen Selenlösungen

μg Selen		Fehler in	μg Selen		Fehler in	μg Selen		Fehler in
angew.	gefunden	μg	angew.	gefunden	μg	angew.	gefunden	μg
0,0	0,0	± 0,0	10,7	12,2	+ 1,5	42,7	41,5	— 1,2
4,5	4,4	— 0,1	17,8	17,8	± 0,0	57,0	57,4	+ 0,4
5,3	6,3	+ 1,0	23,2	22,7	— 0,5	66,7	65,4	— 1,3
7,6	7,8	+ 0,2	26,7	26,6	— 0,1	89,0	89,4	+ 0,4
8,9	9,1	+ 0,2	31,2	31,3	+ 0,1			
9,4	10,0	+ 0,6	35,6	35,8	+ 0,2			

Wie die Zahlen dartun, dürfte die erreichbare Genauigkeit üblichen Anforderungen gerecht werden.

Diskussion

Den Einfluß des *p_H-Wertes* zeigt Abb. 1. Die Versuche hierzu wurden mit Lösungen durchgeführt, die 0,6 mg Cu/ml enthielten und ein Volumen von 15 ml hatten. Die angewandte Selenmenge betrug jeweils 20,0 μg. Bei den Versuchen mit Na-Citrat-HCl- bzw. Na-Citrat-NaOH-Puffern waren in der Fällungslösung jeweils 10 ml Pufferlösung enthalten, die durch Mischen entsprechender Volumina 0,1 m Lösungen von Na-Citrat und HCl bzw. NaOH hergestellt worden waren[9]. Beim Arbeiten mit Citronensäure und Ammoniak enthielt die Fällungslösung stets 0,50 g Citronensäuremonohydrat in 15 ml. Im übrigen wurde nach der Arbeitsvorschrift verfahren.

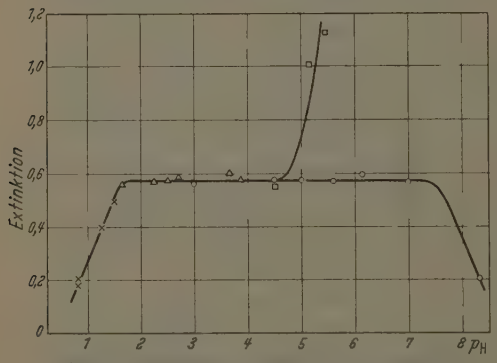


Abb. 1. Der Einfluß des p_H-Wertes auf die Ausfällung des Selens als Cu_2Se. × Beim Arbeiten mit ungepufferten salzsauren Lösungen erhaltene Werte. △ p_H-Einstellung mit Na-citrat-HCl-Puffern. □ p_H-Einstellung mit Na-citrat-NaOH-Puffern. ○ p_H-Einstellung mit Citronensäure und Ammoniak

Es ist offensichtlich, daß man dem Arbeiten mit NH_4-Citratlösungen den Vorzug geben wird. Hier wird Selen im p_H-Bereich von etwa 2—7 quantitativ als Cu_2Se ausgefällt, und es kommt unter keinen Umständen zur Ausfällung von Kupferoxyd. Arbeitet man hingegen mit Na-Citrat-Puffern, so nimmt der Kupfergehalt der Niederschläge oberhalb p_H 4,5 stark zu, offenbar beginnt hier schon eine Ausfällung von Cu_2O.

Auch beim Arbeiten mit NH_4-Citrat wird der erlaubte p_H-Bereich wesentlich enger, wenn man die Kupferkonzentration erniedrigt. Das zeigt Abb. 2. Hier wurde mit 0,06 mg Cu/ml gearbeitet, also einer Kupferkonzentration, die nur $^1/_5$ derjenigen betrug, wie sie in der Arbeitsvorschrift vorgeschlagen war; im übrigen wurde in der dort angegebenen Weise verfahren. — Wie man sieht, werden hier bei p_H 4,5 die gleichen Extinktionen gefunden, wie bei den Versuchen zu Abb. 1, die mit 10fach höheren Kupferkonzentrationen durchgeführt worden sind; doch findet man schon bei relativ geringen Abweichungen vom optimalen p_H-Wert deutliche Minuswerte.

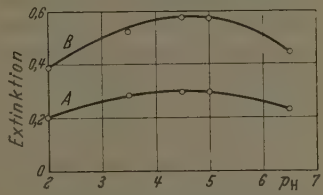


Abb. 2. Der Einfluß des p_H-Wertes auf die Fällung des Selens als Cu_2Se aus Lösungen geringerer Kupferkonzentration. *A* Versuche mit 10 μg Selen; *B* Versuche mit 20 μg Selen

Bei der Festlegung der Kupferkonzentration für die Arbeitsvorschrift gilt es, einen Kompromiß zu finden. Wie man beim Vergleich der Abb. 1 und 2 erkennt, ist es an sich günstig, mit großer Kupferkonzentration zu arbeiten, da das Verfahren dann unempfindlicher gegen Ungenauigkeiten in der Einstellung des p_H-Wertes und auch gegen andere kleine Veränderungen der Arbeitsweise wird. Bei höheren Kupferkonzentrationen in der Fällungsflüssigkeit muß aber dem Auswaschen von Fällungsgefäß und Filterstäbchen sehr viel mehr Sorgfalt gewidmet werden als beim Arbeiten mit kleineren Kupferkonzentrationen. Die Genauigkeit der nach dem vorgeschlagenen Verfahren erhaltenen Selenwerte steht und fällt jedoch mit der Vollständigkeit, mit der das nicht umgesetzte Kupfer der Fällungsflüssigkeit durch Auswaschen entfernt wird. Aus diesem Grunde sollte der Kupfergehalt möglichst niedrig gewählt werden. Bei der Arbeitsvorschrift ist der Kupfergehalt der Analysenlösung so bemessen, daß Abweichungen von dem verlangten p_H-Wert 4,5 um ± 1 p_H-Einheit ohne weiteres zulässig sind; er beträgt 0,31 mg/ml.

Die kleinste *Hydroxylaminsulfatkonzentration*, bei der noch vollständige Ausfällung des Selens als Cu_2Se stattfindet wenn im übrigen die in der Arbeitsvorschrift angegebenen Bedingungen eingehalten werden, liegt bei etwa 0,7 mg/ml Lösung. Der in der Arbeitsvorschrift vorgeschlagene Hydroxylaminsulfatzusatz beträgt etwa das 10fache dieser Mindestmenge.

Hierdurch wird erreicht, daß auch bei Anwesenheit mäßiger Mengen anderer Substanzen, die Hydroxylamin verbrauchen, wie z. B. Fe^{III}, noch eine ausreichende Konzentration des Reduktionsmittels zur Verfügung steht.

Versuche, die mit unterschiedlichen *Siedezeiten* durchgeführt wurden, zeigten, daß die Bildung von Cu_2Se bereits nach einer Siedezeit von 1 min vollständig war, wenn sonst nach der Arbeitsvorschrift verfahren wurde. Der Niederschlag war dann allerdings recht feinteilig und durchsetzte die gesamte Fritte, während er nach einer Siedezeit von 3 min fast vollständig an der Oberfläche der Fritte festgehalten wurde. Eine Verlängerung der Siededauer auf 20 min war ohne Einfluß auf das Ergebnis.

Der *Blindwert* der Bestimmung war stets größer, als daß er durch den nur geringfügigen Kupfergehalt aller vom Beginn des Auflösens des Cu_2Se-Niederschlages an verwendeten Reagentien hätte erklärt werden können. Er entsprach im Mittel aus zahlreichen Versuchen $1{,}9 \pm 0{,}5\ \mu g$ Selen. Die Größe dieses Blindwertes blieb die gleiche, wenn 1. bekannte Selenmengen zwischen 5 und 90 μg ausgefällt, 2. ohne Selenzusatz „blind" gearbeitet, 3. eine nicht erhitzte hydroxylaminsulfatfreie Kupfersulfat-Ammoniumcitratlösung aus dem sonst zur Fällung verwendeten Gefäß durch das Filterstäbchen abgesaugt und dann das Fällungsgefäß mit dem Filterstäbchen sorgfältig ausgewaschen wurde. Danach ist als Ursache des Blindwertes anzunehmen, daß kleine Kupfermengen aus der filtrierten Lösung innerhalb der Fritte verbleiben und nicht herausgewaschen werden können. Der Blindwert änderte sich auch nicht merklich, wenn mit einer 2%igen Ammoniumcitratlösung, dest. Wasser, Methanol oder Wasser-Methanolgemischen gewaschen wurde. Die durch die Streuung des Blindwertes bedingte Unsicherheit der Bestimmung dürfte aber keine Rolle spielen, wenn Selenmengen von 10 μg und mehr vorliegen; sie dürfte dann meist nicht größer sein, als der Fehler der photometrischen Messung.

Die Verwendung von Methanol als *Waschflüssigkeit* hat folgenden Grund. In rein wäßrigen Lösungen neigt der Cu_2Se-Niederschlag dazu, an der Glaswand zu „kriechen". Das wird beim Waschen mit Methanol völlig vermieden. Außerdem wird Methanol schneller durch die Fritte abgesaugt, so daß das Auswaschen schneller vonstatten geht.

Bei der *Extraktion mit Diäthylammonium-diäthyldithiocarbaminat* und CCl_4 aus salpetersaurer Lösung werden sowohl Kupfer als auch Selen extrahiert und zwar als $Cu(DDTC)_2$ bzw. $Se(DDTC)_4$. Die Salpetersäurekonzentration darf dabei nicht größer als etwa 0,6 n sein. Beim Schütteln mit wesentlich stärker salpetersauren Lösungen wird das Reagens oxydativ zerstört. Die Extraktion des Kupfers aus salz- und schwefelsauren Lösungen ist bereits von Strafford u. Mitarb.[11] vorgeschlagen worden. In dem hier vorliegenden Falle hat sie gegenüber der verbreitet ange-

wendeten Extraktion des Kupfers als Diäthyldithiocarbaminat aus alkalischen Lösungen einmal den Vorteil, daß man ohne weiteres mit der sauren Lösung des Niederschlages weiterarbeiten kann, zum anderen wird eine Anzahl von Elementen, die stark gefärbte Diäthyldithiocarbaminate bilden, aus mineralsaurer Lösung nicht extrahiert. Bei der Extraktion aus alkalischer Lösung würden diese, wie z. B. Fe, Co, Ni, das Kupfer begleiten und die photometrische Bestimmung stören, auch wenn sie nur als spurenhafte Verunreinigungen vorhanden sind. Die Ergebnisse vergleichender Untersuchungen über Extraktionen mit Diäthylammoniumdiäthyldithiocarbaminat aus sauren Lösungen werden in Kürze mitgeteilt werden.

Die *Empfindlichkeit* des vorgeschlagenen Verfahrens mag durch folgende Angaben charakterisiert werden. In dem zur Messung kommenden CCl_4-Extrakt liegen je 1 Mol Selen, 2 Mole Kupfer und 1 Mol Selen als Diäthyldithiocarbaminate vor. Die molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten betragen bei 436 mμ für $Cu(DDTC)_2$ 13000 und für $Se(DDTC)_4$ 200[2]. Daraus ergibt sich für die photometrische Selenbestimmung nach dem vorgeschlagenen Verfahren ein molarer dekadischer Extinktionskoeffizient von $(2 \cdot 13000) + 200 = 26200$. Das kürzlich von CHENG[5] zur photometrischen Selenbestimmung vorgeschlagene Diphenylpiazselenol besitzt dagegen einen molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten von 19900. Ein Mol dieser Verbindung enthält aber 2 Mole Selen, so daß für die photometrische Selenbestimmung über das Diphenylpiazselenol ein molarer dekadischer Extinktionskoeffizient von $^1/_2 \cdot 19900 = 9950$ anzugeben wäre. Die Bestimmung des Selens über das Cu_2Se besitzt demnach eine um den Faktor 2,6 größere Empfindlichkeit.

Der *Zeitbedarf* für eine Bestimmung beträgt 20—30 min.

Die Bestimmung des Selens bei Anwesenheit anderer Elemente

Eine Anzahl von Selenbestimmungen wurde bei Anwesenheit verschiedener Mengen anderer Elemente durchgeführt. Die eingesetzte Selenmenge betrug in allen Fällen 17,8 μg (als Se^{IV} vorliegend), das Fällungsvolumen 16 ml.

Diese Elemente wurden als wäßrige Lösungen ihrer Verbindungen zugegeben. Falls es zur Vermeidung von Hydrolyse erforderlich war, enthielten diese Lösungen die eben erforderliche Menge derjenigen Säure, deren Anion in der betreffenden Verbindung bereits vorhanden war. Falls stärker mineralsaure Metallsalzlösungen zugesetzt werden mußten, wurde der p_H-Wert der Analysenlösung vor Beginn des Erhitzens durch Zugeben von Ammoniaklösung wieder auf p_H 4,5 gebracht. Es wurden eingesetzt als Nitrate: Ag^I, Bi^{III}, Hg^{II}, Pb^{II}, Tl^I; als Chloride bzw. Chlorosäuren: Au^{III}, Pd^{II}, Pt^{IV}, Rh^{III}, Sn^{IV}, Te^{IV}; als Sulfate: Cd^{II}, Co^{II}, Fe^{II}, Mn^{II}, Ni^{II}, Zn^{II}; ferner As^{III} als Na-arsenit, Sb^{III} als K-Antimonyltartrat, Mo^{VI} als Ammoniumhexamolybdat.

Folgende Elemente waren bis zu Mengen von 50 mg, d. h. bis zu einem Verhältnis Se : Me = 1 : 2800 ohne Einfluß auf das Analysenergebnis: As^{III}, Cd^{II}, Co^{II}, Fe^{II}, Mn^{II} Ni^{II}, Pb^{II}, Sb^{III}, Tl^{I}, Zn^{II}. Bei den anderen Elementen wurden mehr oder weniger starke Störungen beobachtet, deren Ausmaß im einzelnen aus den Werten der Tab. 2 hervorgeht und deren Ursachen, soweit sie angegeben werden können, in der folgenden Diskussion besprochen werden sollen.

Tabelle 2. *Störungen der Selenbestimmung bei Anwesenheit anderer Elemente*

Vers.-Nr.	Zugesetzt		gefunden µg Se	Fehler µg Se	Vers.-Nr.	Zugesetzt		gefunden µg Se	Fehler µg Se
	Element	mg				Element	mg		
1	Ag^{I}	0,02	11,3	— 6,5	20	Pt^{IV}	0,1	17,8	± 0,0
2	Ag^{I}	0,1	5,4	—12,4	21	Pt^{IV}	0,5	20,6	+ 2,8
3	Ag^{I}	10,0	24,1	+ 6,3	22	Pt^{IV}	1,0	23,3	+ 5,5
4	Au^{III}	0,1	17,8	± 0,0	23	Pt^{IV}	5,0	26,5	+ 8,7
5	Au^{III}	1,0	19,3	+ 1,5	24	Rh^{III}	0,1	17,7	— 0,1
6	Au^{III}	5,0	23,8	+ 6,0	25	Rh^{III}	0,5	17,6	— 0,2
7	Bi^{III}	10,0	17,0	— 0,8	26	Rh^{III}	0,8	17,0	— 0,8
8	Bi^{III}	20,0	14,0	— 3,8	27	Rh^{III}	2,5	16,5	— 1,3
9	Bi^{III}	30,0	2,3	—15,5	28	Rh^{III}	5,0	9,4	— 8,4
10	Hg^{II}	0,05	17,2	— 0,6	29	Sn^{IV}	5,0	17,4	— 0,4
11	Hg^{II}	0,1	17,2	— 0,6	30	Sn^{IV}	20,0	16,9	— 0,9
12	Hg^{II}	0,5	7,4	—10,4	31	Sn^{IV}	30,0	16,4	— 1,4
13	Hg^{II}	10,0	3,3	—14,5	32	Sn^{IV}	50,0	3,8	—14,0
14	Mo^{VI}	0,5	16,9	— 0,9	33	Te^{IV}	0,05	18,4	+ 0,6
15	Mo^{VI}	10,0	15,6	— 2,2	34	Te^{IV}	0,08	17,2	— 0,6
16	Mo^{VI}	50,0	1,7	—16,1	35	Te^{IV}	0,1	19,7	+ 1,9
17	Pd^{II}	0,05	7,7	—10,1	36	Te^{IV}	0,25	21,9	+ 4,4
18	Pd^{II}	0,1	19,0	+ 1,2	37	Te^{IV}	0,5	24,7	+ 6,9
19	Pd^{II}	0,2	50,1	+32,3	38	Te^{IV}	1,0	32,6	+15,8

Diskussion

Silber. Bei Anwesenheit von Silber versagt das Verfahren aus zwei Gründen: Einmal wird nach Geilmann u. Wrigge[7] bei der Einwirkung wäßriger Silberlösungen auf Kupferselenide Kupfer gegen Silber ausgetauscht. Dementsprechend wird mit zunehmendem Silbergehalt der Lösung in steigendem Maße Ag_2Se anstelle von Cu_2Se ausgefällt. Es werden jetzt zu niedrige Extinktionswerte gemessen, denn der Extinktionskoeffizient des nun anstelle von $Cu(DDTC)_2$ gebildeten AgDDTC ist bei 436 mµ viel kleiner[2] (Versuche 1 und 2). Zum anderen wird ein etwa vorhandener Silberüberschuß unter den Reaktionsbedingungen als elementares Silber niedergeschlagen, so daß jetzt eine sehr viel größere Menge an AgDDTC zur Messung kommt, als es dem vorhandenen Selen entspräche. Die bei 436 mµ gemessenen Extinktionen nehmen wieder zu, bis schließlich Plusfehler erhalten werden (Versuch 3).

Gold. Au^{III} wird schon bei Zimmertemperatur durch Hydroxylamin zum Element reduziert. Wenigstens der überwiegende Teil des Goldes ist also schon ausgefällt, ehe beim Erwärmen die Abscheidung von Cu_2Se beginnt. Kleinere Goldgehalte stören deshalb die Selenbestimmung nicht (Versuch 4). Bei etwas größeren Goldgehalten gelingt es aber offenbar nicht, den Niederschlag aus Cu_2Se und metallischem Gold kupferfrei zu waschen, wodurch Überwerte für Selen verursacht werden (Versuche 5 und 6).

Wismut. Während bei Wismutgehalten bis zu 10 mg (Se : Bi = 1 : 500) keine wesentliche Störung der Bestimmung beobachtet wird, obwohl sich bereits eine Tendenz zu geringen Minuswerten bemerkbar macht (Versuch 7), nimmt der Niederschlag bei größeren Wismutgehalten zunehmend eine rötlichbraune Färbung an. Es werden dann Minuswerte erhalten (Versuche 8 und 9).

Quecksilber. Bei Abwesenheit von Selen wird Quecksilber unter den Versuchsbedingungen in elementarer Form ausgefällt. Kleinere Quecksilbergehalte verursachen allerdings keine Störung (Versuche 10 und 11). Bei größeren Quecksilbergehalten tritt hingegen in zunehmendem Maße Quecksilber anstelle von Kupfer in den Selenidniederschlag ein. Da das im weiteren Verlauf der Analyse erhaltene $Hg(DDTC)_2$ bei 436 mμ nur eine äußerst geringe Extinktion besitzt[2] werden nun Minuswerte gefunden (Versuche 12 und 13). Ob unter den Bedingungen der Reaktion Hg^{I}- oder Hg^{II}-Selenid oder Verbindungen entstehen, die dem unter geeigneten Bedingungen sich bildenden $2\,HgSe \cdot HgCl_2$ analog zusammengesetzt sind[3], steht dahin.

Molybdän. Kleinere Molybdängehalte verursachen keine nennenswerte Störung der Bestimmung (Versuch 14), obwohl sich bereits eine Tendenz zu Minuswerten bemerkbar macht. Größere Molybdängehalte bewirken, daß die Fällung mehr und mehr unvollständig wird, bis sie schließlich völlig ausbleibt (Versuche 15 und 16).

Palladium. Palladium verhält sich ähnlich wie Silber, doch sind die Effekte hier noch deutlicher. Die stark ausgeprägte Tendenz zur Bildung von Palladium-Selen-Verbindungen ist bekannt[3].

Platin. Die Verhältnisse liegen hier ähnlich wie beim Gold, nur mit dem Unterschied, daß die Reduktion des Platins zum Metall erst beim Erwärmen der Lösung beginnt.

Rhodium. Bei Gegenwart von Rhodium fällt der Kupferselenidniederschlag sehr viel feinteiliger aus als sonst. Während er gewöhnlich praktisch vollständig an der Frittenoberfläche zurückgehalten wird, durchsetzt er hier die gesamte Fritte. Kleine Rhodiummengen stören aber nicht (Versuche 24 u. 25). Bei Anwesenheit mehrerer Milligramme Rhodium werden hingegen Minusfehler erhalten. Es ist nicht ausgeschlossen, daß bei den Versuchen 27 u. 28 ein Teil des Niederschlages von der Fritte nicht

zurückgehalten worden ist. Zum Teil sind die beobachteten Minusfehler wohl auch darauf zurückzuführen, daß anstelle von Kupfer in unterschiedlichem Ausmaß Rhodium in den Niederschlag gegangen ist. Dies läßt sich daraus schließen, daß der bei Anwesenheit von Rhodium gefällte Selenidniederschlag durch Salpetersäure wesentlich langsamer gelöst wird als sonst. Insgesamt gesehen findet man hier ähnliche Verhältnisse wie bei der Fällung des Selens mit SO_2 bei Anwesenheit von Rhodium[3].

Zinn. Die Verhältnisse sind hier weitgehend ähnlich wie beim Wismut, nur mit dem Unterschied, daß die dort beschriebenen Erscheinungen erst bei höheren Zinngehalten auftreten.

Tellur. Unter den in der Arbeitsvorschrift festgelegten Bedingungen wird Tellur als Kupfertellurid niedergeschlagen, fehlt Kupfer, so würde elementares Tellur ausfallen. Beide Reaktionen verlaufen aber sehr viel langsamer als die Bildung von Cu_2Se. Aus diesem Grunde ist die Bestimmung des Selens auch bei Anwesenheit solcher Tellurmengen noch möglich, die etwa von der gleichen Größenordnung sind wie die zu bestimmende Menge an Selen (Versuche 33, 34 u. 35) Bei größeren Tellurgehalten werden zunehmend Überwerte gefunden, da dann innerhalb der Versuchszeit merkliche Mengen an Kupfertellurid gebildet werden (Versuche 36, 37 u. 38) Ein wesentliches Überschreiten der vorgeschriebenen Siededauer von 3 min hat auch bei Anwesenheit kleinerer Tellurmengen Überwerte zur Folge.

Zusammenfassung

Ein Verfahren zur indirekten Selenbestimmung wird vorgeschlagen. Dazu wird Selen bei p_H 4,5 $\pm$ 1 aus ammoniumcitrathaltiger Lösung bei Anwesenheit eines Überschusses an Kupfer als Cu_2Se abgeschieden. Die Menge dieses Niederschlages wird photometrisch nach Überführen des Kupfers und des Selens in die Diäthyldithiocarbaminate ermittelt. Bestimmungen von 5—100 μg Selen sind möglich. Das Verfahren wird nicht gestört durch As, Cd Co, Fe, Mn, Ni, Pb, Sb, Tl, Zn, auch wenn sie in mehr als 2000fachem Überschuß vorliegen. Au, Bi, Hg, Mo, Pt, Rh, Sn, Te dürfen nur in begrenzten Mengen anwesend sein. Bei Gegenwart von Ag und Pd versagt die Methode.

Unsere Arbeit wurde durch Gaben der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Verbandes der chemischen Industrie — Fonds der Chemie — gefördert, wofür auch an dieser Stelle gedankt sei.

Literatur

[1] Bode, H.: diese Z. **142**, 414 (1954). — [2] Bode, H.: diese Z. **143**, 182 (1954); **144**, 165 (1955). — [3] Bode, H.: diese Z. **153**, 335 (1956). — [4] Boltz, D. F.: Colorimetric Determination of Nonmetals, Intersci. Publ. Inc., New York 1958. — [5] Cheng, K. L: Analyt. Chemistry **28**, 1738 (1956); vgl. diese Z. **157**, 117 (1957). — [6] Geilmann, W., u. F. W. Wrigge: Z. anorg. allg. Chem. **197**, 375 (1931); vgl. diese Z. **96**, 448 (1934). —

[7] Geilmann, W., u. F. W. Wrigge: Z. anorg. allg. Chem. **210**, 378 (1933); vgl. diese Z. **96**, 448 (1934). — [8] Hahn, H., G. Frank, W. Klingler, A. D. Meyer u. G. Störger: Z. anorg. allg. Chem. **271**, 155 (1953). — [9] Küster, F. W., u. A. Thiel: Logarithmische Rechentafeln, 56—60. Auflage, Berlin 1947, Seite 156ff. — [10] Snell, F. D., u. C. T. Snell: Colorimetric Methods of Analysis, van Nostrand Comp. Inc., New York 1948. — [11] Strafford, N., P. F. Wyatt u. F. G. Kershaw: Analyst **70**, 223 (1945).

Professor Dr. Helmut Bode, Hannover, Körnerstraße 6

Aus den organisch-analytischen Laboratorien der Farbenfabriken Bayer A. G.

Die Bestimmung des Pflanzenschutzmittels Metasystox-i*

I. Mitteilung

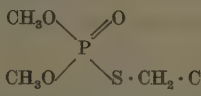
Die Gehaltsbestimmung in technischen Produkten und Formulierungen

Von
W. Pilz

(Eingegangen am 11. Juni 1958)

1. Allgemeines

Metasystox-i gehört zur Gruppe der Systeminsecticide[4] und hat folgende Konstitution:



(I)

Da das Produkt in Wasser sehr wenig löslich ist und nur in sehr starker Verdünnung, z. B. als Spritzbrühe verwendet wird, kommt es für die verschiedenen Anwendungszwecke als Lösung verschiedener Konzentration in einem Emulgator in den Handel. Dieses Emulgator-Wirkstoffgemisch (Formulierung) ist praktisch unbegrenzt mit Wasser mischbar bzw. in Wasser emulgierbar. Es ist von Interesse, den Wirkstoffgehalt der Formulierungen exakt bestimmen zu können.

Eine Bestimmung von I, bzw. dessen Isomeren wurde schon von Henglein u. Schrader[2] mit Hilfe einer Ultrarotmethode angegeben.

Die Verbindung I verseift in Gegenwart von überschüssigem Alkali leicht und in eindeutiger Weise nach folgendem Schema

$$(CH_3O)_2P:O\cdot S\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot S\cdot CH_2\cdot CH_3 + 2\,NaOH =$$
$$(CH_3O)_2P:O\cdot ONa + CH_3CH_2\cdot S\cdot CH_2\cdot CH_2\cdot SNa + 2\,H_2O \qquad (II)$$

zu Dimethylphosphorsäure und dem Mercaptan II (vgl. dazu [1]). Eine weitergehende Verseifung oder eine Verseifung, die in anderer Richtung

* Hersteller Farbenfabriken Bayer A. G., Leverkusen.

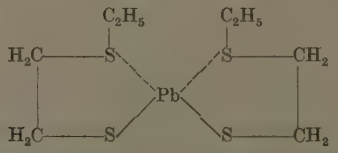
läuft, konnte alkalisch auch bei Anwendung extremer Bedingungen nicht beobachtet werden.

Nach diesem Befund lag es nahe, die Bestimmung von I auf eine analytische Erfassung und Bestimmung von II zu gründen. Dieser Absicht stellten sich aber zunächst bedeutende Schwierigkeiten in den Weg, weil II äußerst unbeständig ist und an der Luft sofort in das entsprechende Disulfid übergeht:

$$4\,CH_3 \cdot CH_2 \cdot S \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot SH + O_2 =$$
$$2\,(CH_3 \cdot CH_2 \cdot S \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot S)_2 + 2\,H_2O.$$

Da aber II die einzige Möglichkeit bietet, eine spezifische Bestimmung für I durchzuführen, haben wir versucht, das entstehende II aus der alkalischen Verseifung abzufangen und zu fixieren. Dies gelingt, wenn man die Verseifung mit alkalischer Plumbitlösung vornimmt, da II ein gegen Oxydation weitgehend unempfindliches Bleisalz bildet. Wegen der Unlöslichkeit von I in Wasser muß hierbei etwas Alkohol als Lösungsvermittler zugesetzt werden.

Wie umfangreiche Untersuchungen ergeben haben, ist das Bleisalz von II in Chloroform löslich und kann aus schwach essigsaurer wäßriger Lösung mit Chloroform quantitativ extrahiert werden. Die Struktur des Bleimercaptides ist durch Synthese aus reinem II, Reinigung aus Chloroform und Vergleich mit der aus I isolierten Verbindung sichergestellt. Es ist wahrscheinlich, daß dem Bleimercaptid die Formel (III) zukommt,



(III)

es sich also um ein inneres Komplexsalz handelt, in dem das Blei als Zentralatom mit den beiden Ätherschwefelatomen nebenvalenzchemisch verknüpft ist und somit in zwei Nebenvalenzfünfringen erster Ordnung steht.

Bei Einhaltung geeigneter Reaktionsbedingungen ist die Ausbeute an III quantitativ. Deshalb kann II bzw. III als Grundlage einer quantitativen Bestimmung von I herangezogen werden. Da man auf diese Weise chloroformlösliches Blei erhält, ist die Methode als weitestgehend spezifisch zu bezeichnen.

2. Prinzip der Methode

I wird in Alkohol gelöst, mit alkalischer Plumbitlösung verseift, das hierbei entstehende III nach entsprechender Pufferung der Verseifungslösung mit Chloroform ausgeschüttelt und die Lösung von III in Chloroform durch Filtration von anhaftendem Wasser, das noch Blei enthält, befreit.

Die chloroformische Lösung wird dann mit Salzsäure zersetzt, wobei alles Blei in die wäßrige Phase geht und komplexometrisch bestimmt werden kann. Diese Art der Bestimmung ist sehr exakt und dient gleichzeitig zu einer eindeutigen Indentifizierung von I.

Ein einfacherer Weg besteht darin, den Chloroformextrakt nach einem Vorschlag von KUPPE[3] mit Schwefelsäure anzusäuern und das dabei frei werdende Mercaptan II in bekannter Weise jodometrisch zu titrieren. Obwohl bei dieser Art der Bestimmung der Fehler etwas größer ist ($\pm$ 0,6%), wird man die Methode meist zur Gehaltsbestimmung in technischen Produkten und Formulierungen heranziehen, da sie weit weniger Arbeitsaufwand erfordert und in wesentlich kürzerer Zeit durchführbar ist als die komplexometrische Methode.

Von der Tatsache, daß I ein chloroformlösliches Bleisalz liefert, kann auch bei einer Rückstandsbestimmung in Pflanzen, Leichenteilen, bei der Spurenanalyse usw. Gebrauch gemacht werden. Hierbei wird das chloroformlösliche Blei photometrisch bestimmt, wodurch eine quantitative Analyse sehr kleiner Mengen I, sowie deren einwandfreie Identifizierung möglich wird. Die Durchführung der Rückstandsbestimmung, der forensischen Analyse usw. wird in einer zweiten Mitteilung ausführlich behandelt werden.

3. Reagentien und Lösungen

Das zur Analyse verwendete Wasser muß frei von Metallspuren sein und dieselben Anforderungen erfüllen, wie sie bei komplexometrischen Mikrobestimmungen üblicherweise gestellt werden.

Standard-Bleilösung. Man löst 379,4 g Pb $(CH_3COO)_2 \cdot 3\,H_2O$ (p. a., Merck) mit Wasser zu 2000 ml;

Standard-Plumbitlösung. 200 ml 0,5 n NaOH-Lösung werden bei Siedehitze tropfenweise mit Standard-Bleilösung versetzt, bis eine bleibende Trübung von basischem Bleisalz auftritt. Nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur filtriert man durch ein Faltenfilter in einen 1000 ml fassenden Meßkolben und füllt mit 0,5 n Natronlauge zur Marke auf. Die Lösung ist praktisch unbegrenzt haltbar, sofern sie in Polyäthylenflaschen aufbewahrt wird;

Ammoniak. Ammoniak Merck (24° Be) wird im Verhältnis 1 : 1 mit Wasser verdünnt. Man löst darin 25 g NH_4Cl p. a. je Liter;

Salzsäure. 300 ml reine konz. Salzsäure (D 1,19) werden mit Wasser zu 1000 ml verdünnt;

Indicator. Chromogenschwarz ETOO von Bayer (= Eriochromschwarz T) wird im Verhältnis 1 : 1000 mit analysenreinem NaCl innig verrieben;

ÄDTA-Lösung. Man stellt sich durch direkte Einwaage der entsprechenden Menge Dinatriumäthylendiamintetraacetat (z. B. Plexochromsalz Bayer) (ÄDTA) eine genau 0,1 n Maßlösung her. Zur Kontrolle titriert man einige Einwaagen von $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (das sich ganz vorzüglich zur Titerstellung von Komplexonlösungen eignet) in bekannter Weise aus;

Zinklösung. Es wird durch direkte Einwaage von $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ (p. a., Merck) und Lösen zu einem definierten Volumen eine genau 0,1 m Maßlösung hergestellt. Diese Zinklösung muß gegen die Komplexonlösung eingestellt sein;

Schwefelsäure. Durch entsprechendes Verdünnen der konzentrierten Merckschen Ware bereitet man eine 20%ige Schwefelsäure. Die Säure muß frei von reduzierenden Substanzen sein und darf im Blindversuch kein Jod verbrauchen;

Jodlösung. 0,1 n Jodlösung;

Chloroform. $CHCl_3$ p. a., Merck.

4. Arbeitsvorschriften

Wie bereits in Abschnitt 2 beschrieben, kann die Bestimmung von I in zwei Varianten durchgeführt werden. Die Verseifung und das Ausschütteln mit Chloroform wird jedoch für beide Ausführungsformen in derselben Weise vorgenommen:

Verseifung und Ausschütteln. Man wägt die 0,2 bis 0,6 g I entsprechende Menge ein, spült die Einwaage mit 10 ml reinem Äthylalkohol in einen mit Schliffstöpsel verschließbaren 500 ml fassenden Kolben, fügt 60 ml Standard-Plumbitlösung zu, verschließt den Kolben und läßt 1 Std bei Zimmertemp. unter gelegentlichem Umschütteln stehen. Bereits nach 10 min färbt sich die Reaktionslösung gelb, wobei gelegentlich gelbes Bleimercaptid in voluminösen Flocken ausfällt.

Nach Ablauf 1 Std setzt man 50 ml $CHCl_3$ und dann 70 ml Standard-Bleilösung zu, verschließt den Kolben wieder und schüttelt kräftig durch. Hierbei wird die wäßrige Phase farblos und trüb, während die sich absetzende organische Phase meist schwach gelb gefärbt ist.

Man bringt den Kolbeninhalt in einen 500 ml fassenden Scheidetrichter und spült dreimal mit je 30 ml Chloroform nach. Die organische Phase wird abgetrennt und die wäßrige Phase noch zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Gelegentlich gelangen dabei kleine Mengen von basischem Bleisalz mit in den Chloroformextrakt. Die vereinigten Chloroformauszüge werden nun durch ein mit trockenem $CHCl_3$ benetztes, doppelt gelegtes Filter (Schl. & Sch. Nr. 595) in einen zweiten, trockenen, 500 ml fassenden Scheidetrichter filtriert und zweimal mit trockenem Chloroform nachgewaschen. Nach Beendigung der Filtration bleiben meist 1—2 ml Wasser und etwas basisches Bleisalz am Filter.

a) Komplexometrische Bestimmung. Die reine und trockene Lösung von III in $CHCl_3$ wird mit 30 ml Salzsäure und anschließend zweimal mit jeweils 30 ml Wasser ausgeschüttelt. Die vereinigten wäßrigen Auszüge werden in einem 250 ml fassenden Titrierkolben 5—10 min zum Sieden erhitzt (Abzug, Siedesteine!), um die Hauptmenge des in Freiheit gesetzten Mercaptans zu vertreiben. Zu der heißen Lösung fügt man aus einer Bürette einen gemessenen Überschuß an 0,1 n ÄDTA-Lösung, läßt abkühlen und titriert nach Zusatz von 40 ml Ammoniak und einer Spatelspitze Indicator (wobei sich die Lösung rein blau färben muß, ansonsten war die ÄDTA-Menge nicht ausreichend) mit der 0,1 m Zinklösung bis zum Umschlag auf Weinrot. Dieser Umschlag erfolgt auf 1 bis 2 Tropfen Maßlösung genau und kann beliebig oft zurückgenommen werden.

Da 1 Mol Pb 2 Mol I entsprechen, kann die Berechnung leicht aus dem Verbrauch an ÄDTA-Maßlösung (abzüglich des Verbrauches an Zinkmaßlösung) erfolgen.

b) Jodometrische Bestimmung. Der alles III enthaltende Chloroformextrakt (vgl. weiter oben) wird in einem Titrierkolben mit 30 ml Schwefelsäure und etwas Stärkelösung versetzt und mit 0,1 n Jodlösung bis zum Umschlag nach Blau titriert. Dabei muß sehr kräftig geschüttelt werden, da sich die beiden Phasen nicht mischen und das zu titrierende Mercaptan in der organischen Phase bleibt. Nach einiger Übung ist der Umschlag sehr gut sichtbar. Die Berechnung erfolgt aus dem Verbrauch an Jodlösung (1 Mol Mercaptan entspricht 1 Mol I).

5. Beleganalysen

Die in den Tab. 1 u. 2 angeführten Beleganalysen sind eine Auswahl der in großer Anzahl nach beiden Varianten durchgeführten Bestimmungen. Die hier verwendeten Mischungen wurden durch Einwaage von

Tabelle 1. *Beleganalysen für die komplexometrische Bestimmung*

I gegeben %	I gefunden %	Fehler % I	Bemerkung
89,3	89,2	—0,1	mit reinem I
72,6	72,8	+0,2	mit reinem I
41,7	41,9	+0,2	mit reinem I
1,2	1,1	—0,1	mit reinem I
82,7	82,4	—0,3	mit technischem I
56,8	56,6	—0,2	mit technischem I
38,5	38,5	0,0	mit technischem I
2,7	2,6	—0,1	mit technischem I

Die größten Abweichungen bei 150 durchgeführten Analysen betrugen $\pm$ 0,3% I.

Tabelle 2. *Beleganalysen für die jodometrische Bestimmung*

I gegeben %	I gefunden %	Fehler % I	Bemerkung
89,3	89,0	—0,3	mit reinem I
41,7	41,7	0,0	mit reinem I
32,5	32,1	—0,4	mit reinem I
1,2	0,9	—0,3	mit reinem I
76,8	76,2	—0,6	mit technischem I
52,3	51,9	—0,4	mit technischem I
24,7	24,9	+0,2	mit technischem I
3,9	3,8	—0,1	mit technischem I

Die größten Abweichungen bei 150 durchgeführten Analysen betrugen $\pm$ 0,6% I.

reinem I und Lösen mit Emulgator W zu einem definierten Volumen hergestellt. Die Kontrolle dieser Einstellungen erfolgte elementaranalytisch durch P- und S-Bestimmungen.

Außerdem wurden etliche Partien von technischem Wirkstoff, dessen Gehalt an I nach obiger Methode bestimmt wurde, in bestimmten Verhältnissen mit Emulgator vermischt und analysiert. Der Gehalt dieser Verschnitte an I wurde hierbei aus dem Wirkstoffgehalt des jeweils verwendeten technischen Produktes und der Einwaage zu den wie oben beschrieben hergestellten Emulgatormischungen errechnet.

Zusammenfassung

Die Bestimmung von Metasystox-i in technischen Produkten und Formulierungen wird beschrieben. Bei der alkalischen Verseifung bildet sich ein äußerst instabiles Mercaptan, das aus der Reaktion als stabiles,

chloroformlösliches, wahrscheinlich innerkomplexes Bleisalz abgefangen wird. Diese Bleiverbindung wird mit Chloroform ausgeschüttelt und entweder das Mercaptan jodometrisch titriert, oder das in eine wäßrige Phase zurückgebrachte Blei komplexometrisch titriert. Die Bestimmung ist weitestgehend spezifisch. Arbeitsvorschriften und Beleganalysen werden beigebracht.

Literatur

[1] Gardner, K., u. D. F. Heath: Analyt. Chemistry **25**, 1849 (1953); vgl. diese Z. **144**, 73 (1955). — [2] Henglein, A., G. Schrader u. R. Mühlmann: diese Z. **141**, 276 (1954). — [3] Nach einem Vorschlag von Herrn Dr. K. Kuppe, Org. analyt. Lab. der Farbenfabriken Bayer A. G., Leverkusen. — [4] Schrader, G.: Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- u. Phosphorverbindungen, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße, Monographie Nr. 62.

Dr. W. Pilz, Ärztliche Abteilung der Farbenfabriken Bayer A. G., Leverkusen

---

Chemisch-technologisches Institut, Sofia (Bulgarien)

Quantitative Bestimmung des Bleis nach dem Verfahren der Oxydations-Innerelektrolyse durch anodische Abscheidung als Blei (IV)-oxyd

Von

A. Lipčinsky und M. Krstewa

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Juni 1958)

Bei allen nach dem Verfahren der inneren Elektrolyse durchgeführten Bestimmungen des Bleis scheidet es sich in Form des freien Metalls auf der Platinelektrode ab. Es sind verschiedene Geräte zur Durchführung der Elektrolyse und in Zusammenhang mit dem zu analysierenden Objekt auch verschiedenartige Zusammensetzungen des Anolyts, Katholyts und des Anodenmetalls vorgeschlagen worden[1–5,8–10,12]. Allen diesen Bestimmungen liegt also der sich an der Kathode abspielende Reduktions-Fällungsprozeß zugrunde:

$$Pb^{2+} + 2e = Pb.$$

Die quantitative Bestimmung des Bleis durch innere Elektrolyse kann, wie wir vor kurzem mitgeteilt haben[6,7], auch so erfolgen, daß man den an der Platinelektrode (Anode) verlaufenden Oxydations-Fällungsvorgang verwertet:

$$PbO_2^{2-} - 2e = PbO_2.$$

Zur Verwirklichung dieser Reaktion bringt man ein aus $K_2S_2O_8$ und Wasser bestehendes Gemisch in eine mit Kollodiumschicht umhüllte Hülse, verbindet mit einer Platinelektrode und taucht dann alles in eine Lösung mit Plumbitionen. Auf diese Weise entsteht ein galvanisches Element $S_2O_8^{2-} \mid 2\,SO_4^{2-} \mid PbO_2^{2-} \mid PbO_2$ (Pt), und infolgedessen scheidet sich Blei(IV)-oxyd auf der Platinelektrode ab. Die Abscheidung des Bleis ist unter diesen Bedingungen vollständig, weil das Oxydationspotential der Reaktion $PbO_2^{2-} - 2e = PbO_2$ wesentlich niedriger ist als das Potential ($E_h^0 = +2{,}05$ V) des Vorgangs:

$$S_2O_8^{2-} + 2e = 2\,SO_4^{2-}.$$

Vorbereitung des Hülsendiaphragmas. Man taucht eine Zellstoffhülse des Soxhletextraktionapparates in eine Collodiumlösung und beläßt sie darin, bis sie gut durchtränkt ist. Darauf trocknet man die Hülse an der Luft, bis sie nicht mehr klebrig ist, taucht wieder kurz in die Collodiumlösung, trocknet wieder und wiederholt dies noch zweimal. Nach gutem Trocknen füllt man die Hülse mit einem dicken Gemisch aus $K_2S_2O_8$ und Wasser (Katholyt); in dieses steckt man eine starke Kokselektrode, die mit einer Einrichtung zum Anbringen einer Platinnetzelektrode versehen ist. Bevor die Hülse mit dem Oxydationsmittel zur Verwendung kommt, taucht man sie in destilliertes Wasser und läßt sie darin einige Stunden stehen.

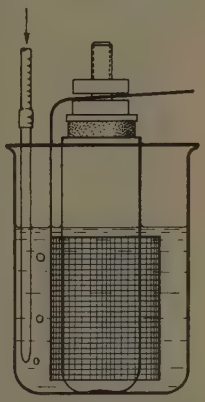


Abb. 1. Gerät zur Bestimmung des Bleis nach dem Verfahren der inneren Elektrolyse

Ausführung der Bestimmung und Versuchsergebnisse. In ein Becherglas von 100 ml Inhalt füllt man ein bestimmtes Volumen Bleinitratlösung von bekannter, nach dem Chromatverfahren bestimmter Konzentration und setzt tropfenweise 20%ige KOH-Lösung zu, bis der erhaltene Niederschlag aufgelöst wird, und gibt noch einen kleinen Laugeüberschuß hinzu. Darauf wird die Lösung (Anolyt) durch Wasser bis auf 40 ml verdünnt. Man taucht die Apparatur mit den kurzgeschlossenen Elektroden (der Platinelektrode von 4,5 cm Höhe und 3,5 cm Durchmesser) ein, wie es aus Abb. 1 zu ersehen ist. Das Rühren des Katholyts erfolgt durch einen gleichmäßigen Luftstrom aus dem Aspirator.

Nach einer bestimmten Zeitdauer werden die Elektroden aus dem Elektrolyt herausgenommen und rasch in ein Becherglas mit destilliertem Wasser getaucht, worauf die Platinelektrode vorsichtig abgelöst, in Wasser, Äthylalkohol und Äther abgespült und gewogen wird. Die Gewichtszunahme der Anode entspricht der Menge des darauf abgeschiedenen Blei(IV)-oxyds, PbO_2.

Die Ergebnisse dieser Versuche (bei jeder Probe werden der Lösung je 7 Tropfen 20%ige KOH-Lösung zugesetzt) sind in Tab. 1 (S. 248) angegeben. Aus ihr ist ersichtlich, daß 8,6 mg Blei innerhalb von etwa 30 min bei Zimmertemperatur vollständig gefällt werden. Nach Ablauf dieser Zeit gibt die Lösung beim Prüfen mit K_2CrO_4 im essigsauren Medium keine positive Reaktion mehr auf Pb^{2+}.

Tabelle 1. *Bestimmung des Bleis in $Pb(NO_3)_2$-Lösung bei Zimmertemperatur*

Angewendet Blei g	Gefunden PbO_2 g	Errechnet Blei g	Dauer der Elektrolyse Minuten
0,0086	0,0093	0,0080	10
0,0086	0,0094	0,0081	10
0,0086	0,0095	0,0082	15
0,0086	0,0097	0,0084	20
0,0086	0,0099	0,0086	30
0,0086	0,0098	0,0085	30
0,0086	0,0099	0,0086	40
0,0086	0,0098	0,0085	40
0,0085	0,0097	0,0084	40
0,0086	0,0097	0,0084	90
0,0085	0,0097	0,0084	90

Tabelle 2. *Bestimmung des Bleis in $Pb(NO_3)_2$-Lösung bei 50—60° C*

Angewendet Blei g	Gefunden PbO_2 g	Errechnet Blei g	Dauer der Elektrolyse Minuten	Zusatz 20%iger KOH-Lösung Tropfen
0,0086	0,0096	0,0083	10	7
0,0086	0,0099	0,0086	15	7
0,0086	0,0098	0,0085	15	7
0,0086	0,0099	0,0086	20	7
0,0086	0,0100	0,0087	20	7
0,0086	0,0098	0,0085	30	7
0,0086	0,0099	0,0086	30	7
0,0172	0,0198	0,0171	30	10
0,0172	0,0195	0,0169	30	10
0,0172	0,0198	0,0171	30	12
0,0172	0,0196	0,0170	30	12
0,0086	0,0099	0,0086	30	22
0,0086	0,0098	0,0085	30	(1 ml)
0,0085	0,0096	0,0083	40	8
0,0085	0,0094	0,0081	30	9
0,0085	0,0098	0,0085	45	(mit starkem Diaphragma, erhalten durch 10-maliges Eintauchen der Hülse in 10%ige Collodiumlösung)
0,0085	0,0098	0,0085	45	
0,0085	0,0099	0,0086	90	8
0,0043	0,0050	0,0043	20	5
0,0043	0,0047	0,0041	20	5
0,0017	0,0019	0,0016	20	5
0,0017	0,0020	0,0017	20	5

Es wurden auch Versuche angestellt, die elektroanalytische Abscheidung des Bleis durch Temperaturerhöhung zu beschleunigen. Einige Ergebnisse dieser Versuche sind in Tab. 2 wiedergegeben und in Abb. 2 graphisch dargestellt.

Aus dem Verlauf der Fällungskurven und den Angaben der Tab. 1 und 2 ist zu erkennen, daß die Elektrolyse unter sonst gleichen Bedingungen beträchtlich beschleunigt wird, wenn man bei höherer Temperatur arbeitet. Die Fällung von 8,6 mg Blei ist bei 50—60° C innerhalb etwa 15 min abgeschlossen, während sie bei Zimmertemperatur etwa 30 min dauert.

Die Eigenschaften des bei der inneren Elektrolyse abgeschiedenen Blei(IV)-oxyds und die Genauigkeit der Ergebnisse hängen nicht von der Menge der in der Lösung enthaltenen Alkalilauge (Tab. 2) ab. In stark alkalischen Lösungen nimmt jedoch die Lebensdauer des Kollodiumdiaphragmas beträchtlich ab und die Hülse wird alsbald überhaupt unbrauchbar. Aus denselben Gründen ist es nicht zweckmäßig, die Bestimmung bei einer höheren Temperatur als 60° C durchzuführen.

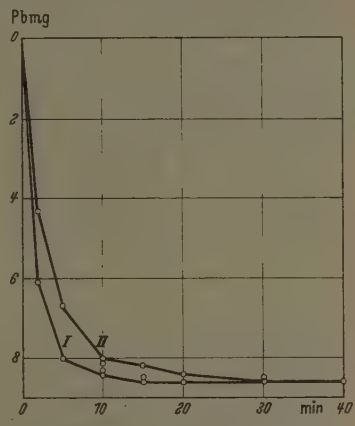


Abb. 2. Fällung des Bleis bei 55° C (*I*) und 20° C (*II*). (In allen Fällen wurden 8,6 mg Pb und 7 Tropfen der 20%igen Kalilauge angewendet)

Die Zusammensetzung und die Eigenschaften des Niederschlages. Der bei Zimmertemperatur oder bei 50—60° C entstandene Niederschlag bedeckt die Platinnetzelektrode gleichmäßig, zeigt eine hellbraune Farbe sowie Metallglanz und haftet gut an der Anode. Er löst sich langsam in verdünnter, oxalsäurehaltiger Salpetersäure (1:2). Das Gewicht des Niederschlags verändert sich praktisch beim Stehen an der Luft nicht und nimmt beim Erwärmen auf 220° C nicht ab, was erkennen läßt, daß die Zusammensetzung des auf der Anode abgeschiedenen Niederschlags der Formel PbO_2 entspricht. In dieser Hinsicht besitzt das Verfahren zur Bestimmung des Bleis auf dem Wege der inneren Elektrolyse einen unbestreitbaren Vorzug gegenüber der äußeren Elektrolyse. Wie bekannt, entsteht bei dieser ein Blei(IV)-oxyd von stark ausgeprägten Adsorptionseigenschaften und nicht streng definierter Zusammensetzung[11].

Zusammenfassung

Die Bedingungen zur Bestimmung des Bleis auf dem Wege der Oxydations-Innerelektrolyse werden untersucht. Es wird ein passendes Verfahren ausgearbeitet, bei dem die Elektrolyse mit Hilfe des Katholyts $K_2S_2O_8 + H_2O$ durchgeführt wird. Die Zusammensetzung des sich auf der

Anode (der Platinelektrode) abscheidenden Niederschlags entspricht der Formel PbO_2 (F = 0,8662). Kleine Bleimengen (bis 17 mg) scheiden sich innerhalb 30 min vollständig ab.

Literatur

[1] Černichov, Ju. A., u. G. A. Bolšakova: Zavodskaja Laborat. **14**, 8 (1948). — [2] Černichov, Ju. A., u. Je. W. Stutzer: Zavodskaja Laborat. **8**, 801 (1939). — [3] Collin, E. M., u. H. J. S. Sand: Analyst **56**, 90 (1931); vgl. diese Z. **87**, 222 (1932). — [4] Ippoliti, P., u. A. Buratti: Alluminio **25**, 231 (1956). — [5] Ippoliti, P., u., E. Scarano: Ann. Chimica **45**, 492 (1955); vgl. diese Z. **152**, 234 (1956). — [6] Lipčinsky, A.: Ž. anal. Chim. **12**, 83 (1957); J. prakt. Chem. [Reihe 4] **4**, 205 (1957); vgl. diese Z. **160**, 41 (1958). — [7] Lipčinsky, A.: Ž. anal. Chim. **13**, 402 (1958). — [8] Muraki, I.: J. electrochem. Assoc. Japan **20**, 441 (1952); vgl. Chem. Abstr. **1953**, 1536c. — [9] Schleicher, A.: diese Z. **126**, 412 (1943). — [10] Schleicher, A.: Z. Erzbergbau Metallhüttenwes. **2**, 212 (1949); vgl. diese Z. **130**, 425 (1949/50). — [11] Schleicher, A.: Elektroanalytische Schnellmethoden, 3. Aufl., Stuttgart 1947, S. 90. — [12] Tutundžić, P. S.: Z. anorg. allg. Chem. **237**, 38 (1938); vgl. diese Z. **123**, 127 (1942).

Kand. Chem. Wiss. A. Lipčinsky, . Chemisch-technologisches Institut, Bul „Evlogi Georgiev" 76a, Sofia (Bulgarien)

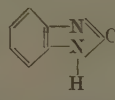
Department of Inorganic Chemistry, Indian Association for the Cultivationo Science, Calcutta, India

2-Mercaptobenzimidazole (2-Benzimidazolethiol) as a Colorimetric Reagent for Palladium

By
J. Xavier

With 3 Figures in the Text

(Eingegangen am 6. Juni 1958)

The use of 2-mercaptobenzimidazole,  , as an analytical reagent was introduced by Kuraš[4]. He prepared a number of salts of the reagent with certain heavy metals and also evolved methods for the gravimetric estimation of copper, cadmium and lead, the last two elements being determined by direct weighing of their compounds. Pyrolysis curves of cadmium and lead compounds have been later studied by Duval[3]. According to Dubský[1], the bismuth and copper precipitates are of the inner metallic complex type, but this assumption is not favoured for lack of conclusive data.

Steigman[6] has reported that 2-mercaptobenzimidazole yields an orange-yellow precipitate with palladium solutions and it could be employed as a specific reagent for the detection of palladium. An attempt was made in this laboratory to determine the composition of the palladium compound precipitated from acid solutions. The palladium and the sulphur contents of the precipitates, obtained under different conditions of acidity (hydrochloric acid), was, however, found to vary. The composition, $Pd(C_7H_5N_2S)_2$, is reported by Majumdar and Chakrabartty[5], who precipitated the compound at p_H 5.0—10.1. They also estimated palladium with this reagent in presence of many cations, using EDTA as a masking agent. Dutta[2] has recently employed the reagent for the gravimetric determination of silver in ammoniacal medium.

An outline of the method for the spectrophotometric determination of palladium using the reagent was reported earlier in a note[8]. This communication presents the full details and description of the method. The optical density of the orange-yellow colour, developed in aqueous medium at p_H 1.0—2.6 by the addition of an alcoholic solution of 2-mercaptobenzimidazole to very dilute palladium solutions, was measured at 380 mμ. The colour system was found to obey Beer's law.

The orange-red precipitate of palladium-mercaptobenzimidazole (from hydrochloric acid solutions) is soluble in iso-amyl alcohol. But spectrophotometric determination of palladium after extracting the compound by iso-amyl alcohol was not possible, as the colour intensity of the extract was found to diminish with time.

Experimental

Apparatus. All the absorption measurements were carried out with a Unicam SP 600 spectrophotometer using glass cells of suitable thickness, 5 mm, 10 mm, or 20 mm.

Measurements of p_H were made with a Cambridge p_H meter (Bench type) using glass and saturated calomel electrodes.

Solutions. Standard palladium solution: A stock solution of palladium was prepared by dissolving palladous chloride (Johnson Matthey & Sons) in concentrated hydrochloric acid (G. R. — E. Merck) and diluting with distilled water. This solution was standardised by the dimethylglyoxime method.

Reagent solution: 1% (w/v) solution of 2-mercaptobenzimidazole in 95% ethyl alcohol. 2-Mercaptobenzimidazole was prepared according to the method of Van Allan and Deacon[7], from o-phenylenediamine and potassium ethyl xanthate.

Solutions of foreign ions: Prepared from reagent grade chemicals.

Absorption Curves

The absorption maxima of the orange-yellow solution and of the reagent solution were found to lie in the ultra violet region (cf. Fig. 1, p. 252). The most suitable wave length for measurements of optical density was chosen as 380 mμ.

Reagent Concentration

1 ml of the reagent solution was used to develop the orange-yellow colour, which was found to be sufficient for palladium up to 0.25 mg in 25 ml total volume. Addition of an excess of the reagent had no effect on the optical density of the solution.

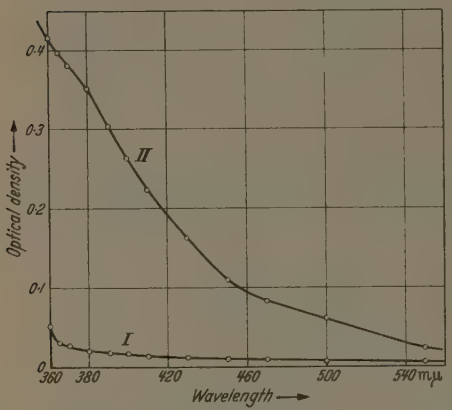


Fig. 1. Absorption curves; cell length 10 m. Curve *I*: Reagent blank (2 ml reagent soln., vol. 25 ml); Curve *II*: Palladium complex (2 ppm Pd; 2 ml reagent soln., vol. 25 ml)

Effect of p_H-Value

The colour intensity was maximum between p_H values 1.0—2.6. Below p_H 1.0 the palladium compound was thrown down from the solution, and above p_H 2.6, the intensity of the colour diminished gradually. Fig. 2 shows the effect of p_H on the optical density of a solution, containing 2 ppm Pd and 1 ml of reagent solution in 25 ml total volume, made up with water. The optical density of the reagent solution was unaffected by a change in p_H.

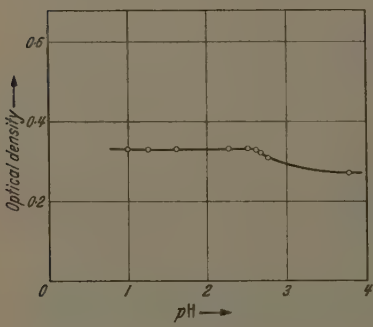


Fig. 2. Effect of p_H-value

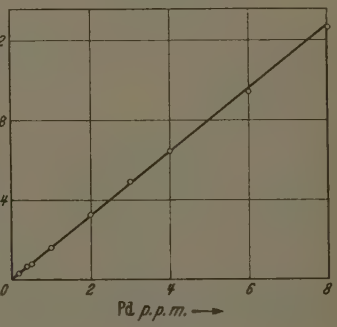


Fig. 3. Beer's law curve at 380 mμ, cell length 10 mm

Beer's Law Curve

The system was found to obey Beer's law. The measurements of optical density were made at 380 mμ, between p_H 1.0—2.6, after adding 1 ml of the reagent and making up the volume to 25 ml with water. The results are represented by Fig. 3.

Stability of the Colour

The maximum colour intensity was attained within 10 minutes after the addition of the reagent. Even after 48 hours, the optical density was found to remain unaltered.

Effect of Temperature

Slight variations of temperature within the range 25—35° C did not alter the optical density of the solution. It was also noticed that the intensity remained unchanged even after the solution was heated to about 80° C and subsequently cooled.

Sensitivity

This is given by 0.006 μg Pd per cm^2 (SANDELL) and 0.04 μg Pd per cm^2 (practical).

Effect of Diverse Ions

Cobalt, nickel, lead, cadmium, manganese and chromium do not interfere with the palladium estimation, when present in small quantities. But tungstate, molybdate, vanadate, mercury, bismuth, silver, gold and platinum must be absent from the solution to be determined. The interference due to small amounts of iron (III) can be eliminated by the addition of 5 ml of 10% phosphoric acid solution before the reagent addition. The tolerance limits of foreign ions (ppm) for 2 ppm Pd are as follows:

Co^{2+} (400), Ni^{2+} (20), Cd^{2+} (600), Mn^{2+} (500), Cr^{3+} (50), Pb^{2+} (500), Cu^{2+} (20), Fe^{3+} (150 in presence of H_3PO_4), Fe^{2+} (200) and molybdate (40). Anions like nitrate, sulphate, acetate and phosphate do not affect the colour.

Procedure

The p_H of the palladium solution (volume 15—20 ml) is adjusted to 1.0—2.6. 1 ml of 1% alcoholic solution of 2-mercaptobenzimidazole is then added and the volume made up to 25 ml with water. The optical density is measured at 380 mμ against a reagent blank, 10 minutes after the addition of the reagent. When iron is present in small quantities, 2—5 ml of 10% phosphoric acid is to be added previously.

Summary

A spectrophotometric method for the determination of palladium using 2-mercaptobenzimidazole is described. The orange-yellow colour developed in aqueous medium at p_H 1.0—2.6 by the addition of an alcoholic solution of the reagent, is measured at 380 mμ. The system is found to obey Beer's law. The interference limits of diverse ions are also given.

Acknowledgement. The author feels deeply indebted to Professor P. RÂY, Professor (Hony.) of Inorganic Chemistry and Director, Indian Association for the Cultivation of Science, for his helpful suggestions and valuable criticisms during the progress of the work and to Dr. P. C. BANERJEE for his kind interest in the work.

References

[1] Dubský, J.V.: Mikrochemie, **28**, 145 (1940). — [2] Dutta, R. L.: J. Indian chem. Soc. (in press). — [3] Duval, Cl.: Anal. chim. Acta, **4**, 159, 190 (1950). — [4] Kuraš, M.: Chem. Obzor.; **13**, 95 (1938); **14**, 49, 51, 145 (1939); **16**, 124 (1941); Collection czechoslov. chem. Commun.; **11**, 313, 321, 367 (1939); vgl. diese Z. **121**, 39 (1941). — [5] Majumdar, A. K., and M. M. Chakrabartty: Naturwissenschaften, **44**, 511 (1957); vgl. diese Z. **162**, 132 (1958). — [6] Steigman, A. J.: J. Soc. chem. Ind. **62**, 42 (1953). — [7] Van Allan, J. A., and B. D. Deacon: Organic Syntheses, **30**, 56; John Wiley & Sons Inc. New York 1950. — [8] Xavier, J.: Proc. Indian Science Congress, Part III, p. 63 (1956).

Dr. J. Xavier, Department of Inorganic Chemistry, Indian Association for the Cultivation of Science, Jadavpur, Calcutta 32, India

---

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie

II. Analyse anorganischer Stoffe

Die Reaktionen von Dipikrylamin mit Cs, Rb, K und NH_4 haben V. Kouřím, J. Krtil und C. Konečný[1] neu untersucht. — Beim *Tüpfelnachweis* der Alkalimetalle mit Dipikrylamin nach Feigl gibt nach den Feststellungen der Verff. nur das *Rubidium* einen carminroten Fleck, der sich deutlich von den orangefarbenen Flecken von K und Cs unterscheidet und zum Nachweis des Rubidiums neben den anderen Alkalimetallen dienen kann. — Zur *gewichtsanalytischen Bestimmung von Caesium* erwärmt man die 13—122 mg CsCl enthaltende Lösung (20 ml) auf 60—70° C und fügt eine 3%ige Lösung von Lithiumdipikrylaminat in 100%igem Überschuß in einem Guß zu. Man kühlt dann 3—5 Std auf 0—1° C, filtriert in einen Glasfiltertiegel, wäscht mit 10 ml wasserfreiem, gekühltem Äthyläther in kleinen Anteilen und trocknet bei 85—90° C bis zur Gewichtskonstanz. Bei ungenügendem Überschuß an Fällungsmittel oder bei tropfenweiser Fällung ergeben sich zu niedrige Resultate; liegen mehr als 122 mg CsCl in 20 ml vor, so fallen die Werte infolge Adsorption des Fällungsmittels zu hoch aus. — Die *Löslichkeiten der Dipikrylaminate* von Cs, Rb, K, NH_4 in Wasser sind in der Tabelle zusammengestellt.

Tabelle

Dipikrylaminat von	Löslichkeit (g/l) bei		
	0° C	20° C	50° C
Cs	0,0425	0,155	0,595
Rb	0,0920	0,297	1,06
K	0,192	0,638	2,20
NH_4	0,550	1,87	7,50

Diprikrylamin selbst löst sich in schwach angesäuertem Wasser von 20° C (100 ml mit 1 ml 0,01 n Salzsäure versetzt) zu 0,0027 g/l, in Äthyläther von 20° C zu 0,034 g/l. Von Cs-, Rb- und K-Dipikrylaminat lösen sich weniger als 1 mg in 1 l Äthyläther von 20° C. — Das *Absorptionsmaximum* der wäßrigen Lösungen der

Diprylaminate von Cs, Rb, K und NH_4 liegt bei 425 mμ. Das Beersche Gesetz ist nicht erfüllt, daher muß die colorimetrische Bestimmung an Hand von Eichkurven erfolgen. Die Absorptionsspektren der Dipikrylaminatlösungen in Wasser und Äther sind charakteristisch voneinander unterschieden, was mit Strukturänderungen zusammenhängt, die diskutiert werden.

[1] Chem. Listy **52**, 262—268 (1958) [Tschechisch]. Inst. f. Kernphysik, Akad. Wiss., Prag (ČSR). H. KURTENACKER

Die Bestimmung der unlösliche Jodide bildenden Ionen von Silber, Palladium(II) und Kupfer(I) mittels *radiometrischer Titration* unter Benutzung von ^{131}Jod als Indicator führen GY. TÖLGYESSY und P. SCHILLER[1] in folgender Weise aus: In ein 200 ml-Becherglas (Abb. 1) taucht eine mit Sinterglasplatte abgeschlossene Glasröhre (*1*), welche spiralförmig um eine Geiger-Müller-Röhre gelegt und mit einer Injektionsspritze (*2*) verbunden ist. Das GM-Rohr ist in einen Bleiblock (*3*), gegen äußere Impulse geschützt, gebettet und mit einem Tesla TM 791 Zähler (*4*) verbunden. Als Maßlösung dient eine 0,1 n Kaliumjodidlösung, zu deren 200 ml 1 ml ^{131}Jodlösung gemischt worden ist. Die spezifische Aktivität der Jodlösung war 0,842 mC/ml. Zu 50 ml der Versuchslösung wird die Maßlösung in bestimmten Anteilen gegeben, gut verrührt und nach Absetzen des Niederschlages mit der Injektionsspritze Lösung in die Spirale gehoben und die Aktivität gemessen. Die Auswertung kann graphisch, oder aus zwei Meßergebnissen berechnet werden. Die Silberbestimmung ergibt eine Genauigkeit von —2,08%, bzw. nach Anwendung der korrigierten Impulswerte +0,6%. Die Palladiumbestimmung hat Werte mit Abweichungen von +0,58 bis 1,27%, bei der Kupferbestimmung betrug die Abweichung +0,57 bis 1,52%. Zur graphischen Auswertung sind mehrere Messungen nötig, daher ist die Zeitdauer einer solchen Titration größer, als wenn die Bestimmung aus zwei Meßwerten berechnet wird. Im letzten Fall kann die Bestimmung in 8—10 min ausgeführt werden.

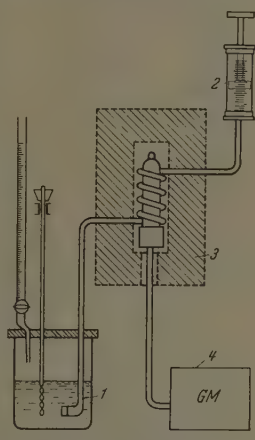


Abb. 1. Apparat zur radiometrischen Titration nach TÖLGYESSY u. SCHILLER. *1* Mit Sinterglasplatte verschlossenes Glasrohr; *2* Injektionsspritze; *3* Bleiblock; *4*. Tesla TM 791 Zähler

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **63**, 269—271 (1957) [Ungarisch]. (Mit dtsch. Zus.-fass.) Techn. Univ., Bratislava (ČSR). J. PLANK

Gold. *Als Reduktionsmittel für die Bestimmung des Goldes in elementarer Form* verwenden S. COSMA und I. LUPŞA *Urotropin*, welches im alkalischen Milieu in Formaldehyd übergeht. — *Ausführung.* In 25—50 ml der salpetersauren Lösung mit 20—80 mg Au löst man 1—2 g Urotropin, erhitzt zum Sieden und gibt unter kräftigem Rühren 5—10 ml 20%ige Natronlauge hinzu. Wenn sich der schwarze Niederschlag abgesetzt hat, kühlt man ab, filtriert durch einen Filtertiegel, wäscht erst mit warmem Wasser, dann mit Alkohol und Äther und trocknet im Vakuumexsiccator. — Andere leicht reduzierbare Elemente, wie Cu, Ag, Hg, und Bi können aus dem Niederschlag mit Salpetersäure vor dem Waschen herausgelöst werden.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **7**, 95—99 (1956) [Rumänisch]. (Nach franz. Zus.-fass. ref.) Trust. minier, Gurabarza-Brad (Rumänien). G. DENK

Für die heterometrische Bestimmung von Gold(III) und Palladium(II) mit Rubeanwasserstoff geben M. Bobtelsky und J. Eisenstadter[1] Arbeitsweisen an, die 1 mg der Metalle in 20 ml Lösung zu erfassen gestatten. Au^{III} und Pd^{II} geben je 3 unlösliche Verbindungen mit Rubeanwasserstoff (R). Von den Goldverbindungen entsteht AuR bei p_H 1—3, Au_2R_3 bei p_H 5—7, Au_3R_2 bei p_H 8—10. Palladium bildet bei p_H 1—3 die Verbindung Pd_3R_2, bei p_H 7—8 die Verbindung Pd_2R_3; beide Pd-Verbindungen werden durch einen Überschuß an Rubeanwasserstoff in die Verbindung PdR übergeführt. AuR und Au_2R_3 lösen sich in Aceton und Dioxan mit brauner Farbe, Pd_3R_2 mit gelber Farbe. Mit Platin reagiert Rubeanwasserstoff sehr langsam. — *Ausführung. Gold.* Man titriert 0,002 m $AuCl_3$-Lösung in 0,05 m salpetersaurer oder 0,1 essigsaurer Lösung bis zum ersten Maximum der optischen Dichte, das mit der Bildung von AuR übereinstimmt. Die Titration dauert 20—30 min. In stark ammoniakalischer Lösung verläuft die Titration sehr rasch unter Bildung von Au_3R_2. Derselbe Endpunkt wird (allerdings verzögert) in Na_2HPO_4-Lösung erreicht. — *Palladium* wird am besten in saurer Lösung zu Pd_3R_2 titriert. Man versetzt die etwa 1 mg Pd in 20 ml enthaltende Lösung mit 1 ml 0,5 m Salpetersäure und 1 ml 0,5 m NH_4Cl- oder NaCl-Lösung und titriert mit 0,002 ml Rubeanwasserstofflösung. Die Bestimmung dauert 15 min, der Analysenfehler beträgt weniger als 1%.

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 579—587 (1957). Hebrew Univ. Jerusalem (Israel). Klaus Brodersen

Eine photometrische Methode zur Mikrobestimmung des Calciums mit Pikrolonsäure und Methylenblau beschreibt D. Ch. Nonowa[1]. Calcium wird mit Lithiumpikrolonat gefällt. Ca-Pikrolonat wird abgesaugt, in heißem Wasser gelöst und die Lösung mit Methylenblau versetzt. Das Methylenblau-Pikrolonat wird mit Chloroform extrahiert und der blaugrüne Chloroformauszug photometriert. — *Ausführung.* Die zu prüfende Lösung, mit 10—80 μg Ca, wird im Wasserbad auf 50° C erwärmt und tropfenweise mit dem Drei- bis Vierfachen der theoretisch berechneten Menge an 0,05 n Li-Pikrolonatlösung versetzt. Die Fällung muß unter ständigem Schwenken des Becherglases erfolgen, da man sonst keinen kristallinen Niederschlag erhält. Die Lösung wird je nach Ca-Menge 2—5 Std in Eis gekühlt und dann mit einem Filtrierstäbchen abfiltriert. Der Niederschlag wird erst mit einigen Tropfen Eiswasser und dann zweimal mit wasserfreiem Äther gewaschen. Durch Behandlung mit heißem Wasser wird der Niederschlag in Lösung gebracht, die auf 100 ml aufgefüllt wird. 2 ml Lösung werden im Scheidetrichter mit 2—3 ml Wasser, 6,0 ml Chloroform und einigen Tropfen 0,0002 n Methylenblaulösung versetzt. Das erhaltene Gemisch wird genau 1 min durchgeschüttelt. Die wäßrige Phase muß schwach blau gefärbt sein; ist sie farblos, so muß noch Methylenblaulösung zugesetzt werden. Der Chloroformauszug wird in 10 mm-Küvetten bei 643 mμ gemessen. Der Ca-Gehalt wird einer Eichkurve entnommen. Der mittlere Fehler der Bestimmung beträgt $\pm$ 1%. Der Einfluß von Fremdionen ist nicht untersucht worden.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 111—116. Univ. Sofia (Bulgarien). H. Zimmer

Radiochemische Trennungsverfahren für Barium, Strontium, Calcium und Silber haben D. N. Sunderman u. W. W. Meinke[1] einer kritischen Prüfung unterzogen. Zur *Abtrennung des Bariums von anderen Aktivitäten* empfehlen die Verff. nach Zusatz von Trägern die Fällung mit Salzsäure-Äther 4 : 1 als $BaCl_2 \cdot 2H_2O$. 82% des Bariums werden so gewonnen, die Dekontaminationsfaktoren betragen: für Sb 1—10, für Ir, Sr, Ru, Zr 10—100, für Ag, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, J, Se, Sn, Ta 100—1000. Zweimalige Wiederholung dieser Fällung nach Lösung des

$BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$ und Zusatz neuer Träger führt zu einer 55%igen Ausbeute an Barium und Dekontaminationsfaktoren von 10—100 für Sb, 10^3—10^4 für Ir, 10^4—10^5 für Sr, 10^5—10^7 für Ag, Ca, Ce, Co, Cr, Cs, J, Ru, Se, Sn, Ta und Zr. Nach nochmaliger Auflösung ergibt eine Fällung des Bariums mit 10%iger Schwefelsäure bei 55%iger Ausbeute in bezug auf die anfangs vorhandene Bariummenge folgende Dekontaminationsfaktoren: 10^2—10^3 für Sb, 10^4—10^5 für Ir und Sr, 10^6—10^8 für Ag, Ca, Ce, Cs, Ru, Zr und 10^8—10^9 für Co, Cr, J, Se, Sn und Ta. — *Strontium* fällt man anschließend aus den vereinigten Lösungen, aus denen das Barium nach obenstehender Methode entfernt worden ist, als Oxalat in alkalischer Lösung. — *Calcium* wird nach Abtrennung des Bariums und Strontiums als Sulfate in saurer Lösung aus neutraler Lösung als Oxalat gefällt. — Für *Silber-Abtrennungen aus Uranspaltprodukten* verwendet man die *Isotopen-Austauschreaktion* mit AgCl. Hierzu werden 10 mg Ag elektrolytisch als Metall abgeschieden, anschließend durch Schaltung als Anode in Salzsäurelösung in Silberchlorid übergeführt und nun 15 min bei Zimmertemperatur unter Rühren in Kontakt mit der aktiven Silbersalzlösung gelassen. Man erhält so bei 100%iger Ausbeute schon sehr reines Silberchlorid. Dieses löst man in einer Lösung, die etwa 3 m an NaCN und 0,5 m an NaOH ist, elektrolysiert 15 min bei 4 Volt und scheidet so das Silber als Metall bei 100%iger Ausbeute ab. Die Dekontaminationsfaktoren für beide Schritte betragen: 10^4 für Sn, 10^5 für Ir, $2 \cdot 10^5$ für Sb und Ta, $5 \cdot 10^5$ für Cr, 10^6—10^7 für Ru, Zr, Se, Ce, 10^7—10^8 für J, Sr und Co, und 10^{10} für Cs. — Die Verff. diskutieren noch zahlreiche andere Trennungsverfahren, nämlich für Ba, Sr, Ca die Trennungsverfahren als Dichromat, Nitrat, Chlorid, Oxalat, Sulfat, für Ag die Fällung als Chlorid, Benzotriazol, die elektrolytische Abscheidung. Außerdem wird die Anwendung von Eisen- und Lanthanhydroxyd als Sammler und Entferner (Scavenger) von Verunreinigungen behandelt.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1578—1589 (1957). Univ. Ann. Arbor, Michigan (USA).

KLAUS BRODERSEN

Zur colorimetrischen Zinkbestimmung empfehlen H. F. LIDDELL und S. M. WILLIAMS[1] einige Derivate der 1-Amino-2-naphthol-4-sulfonsäure als Farbreagentien. Sehr empfindlich ist die Farbreaktion mit *1-(1-Hydroxy-2-naphthylazo)-5-nitro-2-naphthol-4-sulfonsäure (Chromschwarz CAT)* und *1-(5-Hydroxy-3-methyl-1-phenylpyrazolylazo)-2-naphthol-4-sulfonsäure (Solochromrot ERS)*, weniger empfindlich mit *1-(2-Hydroxy-1-naphthylazo)-2-naphthol-4-sulfonsäure (Chromcyanin B)*. Für die verschiedenen Zinkkonzentrationen werden unterschiedliche Verfahren angegeben. — *Ausführung. a) Für 0,1—1,0 µg Zn/ml.* 1 ml 0,1%ige Solochromrot-ERS-Lösung wird im 25 ml-Meßkolben mit 1 ml 2,5%iger Na_2CO_3-Lösung und der zu untersuchenden Zinksalzlösung versetzt. Man füllt mit Wasser zur Marke auf und photometriert nach 5 min in 1 cm-Küvetten gegen eine Blindlösung unter Verwendung von Grünfilter (Ilford Nr. 604). — *b) Für 0,1—1,0 µg Zn/ml.* 0,75 ml 0,1%ige Chromschwarz CAT-Lösung, 1 ml 2,5%ige Na_2CO_3-Lösung und die Probelösung werden im 25 ml-Meßkolben zur Marke aufgefüllt. Die erhaltene Farblösung wird nach 5 min unter Verwendung von Rotfilter (Ilford Nr. 608) photometriert; Vergleichslösung ist Wasser. — *c) Für 0,5—4,0 µg Zn/ml.* Man versetzt 2,0 ml 0,1%ige Chromcyanin B-Lösung im 25 ml-Meßkolben mit 2 ml 2,5%iger Na_2CO_3-Lösung, gibt die Zinksalzlösung zu, füllt zur Marke auf und photometriert nach 5 min in 1 cm-Küvetten unter Verwendung von Rotfilter (Ilford Nr. 608); Vergleichslösung ist Wasser. — *d) Für 0,01—0,1 µg Zn/ml.* 0,5 ml 0,02%ige Solochromrot ERS-Lösung, 0,5 ml 0,5%ige Na_2CO_3-Lösung und die Probelösung werden im 25 ml-Meßkolben mit Wasser zur Marke aufgefüllt. Nach 5 min wird in 4 cm-Küvetten gegen Wasser als Vergleichslösung unter Verwendung von Grünfilter (Ilford Nr. 604) photometriert. — *e)* Zum visuellen Farbvergleich für Zinkmengen

von 0,0025—0,01 µg Zn/ml Probelösung werden 1,5 ml 0,02%ige Solochromrot-ERS-Lösung oder 1,0 ml 0,02%ige Chromschwarz CAT-Lösung im 100 ml-Nesslerzylinder mit 1,5 ml 0,5%iger Na_2CO_3-Lösung und der zu untersuchenden Zinksalzlösung versetzt und auf 100 ml verdünnt. Man wartet 5 min und vergleicht dann mit entsprechenden Standardlösungen. — Die nachstehend genannten Ionen stören die Farbreaktionen: Mg^{2+}, Ca^{2+}, Ba^{2+}, Sr^{2+}, Cd^{2+}, Zr^{2+}, VO_2^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Hg^{2+}, Be^{2+}, Pb^{2+}, Ag^{+}, Fe^{3+}.

[1] Analyst **83**, 111—113 (1958). Chem. Def. Exp. Establ., Porton, Wilts. (England).
K. Machner

Aluminium. *Eine konduktometrische Methode zur Bestimmung von Aluminium* beschreibt G. B. Pasovskaja[1]. Das zu bestimmende Aluminium wird in den Oxalatkomplex übergeführt, der Oxalatüberschuß wird konduktometrisch mit Calciumnitratlösung zurücktitriert. Die an Aluminium gebundenen Oxalatgruppen reagieren nicht mit der Calciumlösung. Die Titrationskurve hat die ⌋-Form, der Endpunkt ist scharf festzustellen. Eisen stört, es wird entfernt, indem man Aluminium nach dem Thiosulfatverfahren fällt. — *Ausführung.* Man fügt eine abgemessene Menge der zu untersuchenden Aluminiumlösung zu 5 ml 0,05 n Natriumoxalatlösung, gibt 0,5 m gesättigte Methylviolettlösung und etwas gut ausgewaschenes, trockenes, zerkleinertes Calciumoxalat zu und füllt mit destilliertem Wasser auf 30 ml auf. Man titriert dann konduktometrisch mit Calciumnitratlösung. Der Titer der 0,05 n Natriumoxalatlösung wird in Gegenwart von Methylviolett und dem Niederschlag von Calciumoxalat gegen die Calciumnitratlösung konduktometrisch eingestellt. Bei Anwendung von 0,3—0,9 mg Al in 30 ml Lösung wurden Abweichungen von 0—0,35% erhalten. Bei kleineren Al-Mengen steigen die Fehler rasch an. — *Trennung des Aluminiums von Eisen.* Man neutralisiert die auf 20 ml verdünnte Lösung gegen Methylrot durch tropfenweise Zugabe von konz. Ammoniak bis zur Gelbfärbung, entfernt eine aufgetretene Trübung mit einigen Tropfen konz. Salzsäure und versetzt dann mit 2 ml 20%iger Natriumthiosulfatlösung. Zu der zum Kochen erhitzten Lösung gibt man 1 ml 20%ige Ammoniumacetatlösung, kocht 2—3 min und filtriert vom gebildeten Niederschlag, der mit siedender 5%iger Ammoniumnitratlösung bis zum Verschwinden der Chlorreaktion und anschließend dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen wird. Filter und Niederschlag werden in einem kleinen Gefäß mit 5 ml 0,5 n Essigsäure übergossen. Die über Watte abfiltrierte Lösung nebst drei Nachspülungen mit heißer 1%iger Essigsäure werden mit 1—2 Tropfen alkoholischer Jodlösung versetzt, deren Überschuß weggekocht wird, worauf die konduktometrische Titration in der zuvor angegebenen Weise durchgeführt wird. — Bei der Anwendung der Methode für die *Aluminiumbestimmung in eisenhaltigem metallischem Aluminium* wurden in 5 Versuchen im Durchschnitt um 0,8% höhere Werte als nach dem Kolthoff-Verfahren erhalten. Die niedrigeren Ergebnisse bei diesem Verfahren werden auf die Absorption von Al im Niederschlag von Eisenhydroxyd erklärt.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 760—761 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Turkmenische medizin. Inst. Aschchabad. E. Förster

Zur Bestimmung kleiner Mengen von Aluminium neben Titan schlagen M. E. Bertin und A. H. Guerrero[1] ein Verfahren vor, bei dem Aluminium (Eisen, Zirkonium usw.) mit Ammoniak gefällt werden, das Titan aber durch Wasserstoffperoxyd in Lösung gehalten wird. Der Aluminiumhydroxydniederschlag wird nach dem Glühen gewogen. Die Resultate sind bei Anwendung von 0,6—5 mg Al meist um wenige Zehntel Milligramme zu niedrig. — Verff. beschreiben die vollständige Analyse eines als Pigment verwendeten Titandioxyds mit 98,96% TiO_2, 0,51% FeO

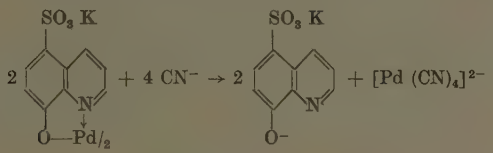
und 0,60% SiO_2. Nachdem man das Material in üblicher Weise in Lösung gebracht hat, wird das Titan zu Ti^{III} reduziert und mit Permanganat titriert. SiO_2 wird gravimetrisch, Eisen colorimetrisch bestimmt. Die Eisenbestimmung kann unmittelbar erfolgen oder erst, nachdem man Fe gemeinsam mit Al von Titan getrennt hat. — Zur *Bestimmung von Aluminium* gibt man zur Probelösung 25—30 ml 30%ige Wasserstoffperoxydlösung, fügt dann allmählich konz. Ammoniak bis zur Entfärbung und noch 0,5 ml im Überschuß zu, filtriert, wäscht den Niederschlag mit 5% H_2O_2-enthaltendem 10%igem Ammoniak und verglüht dann zum Oxyd, das gewogen wird. Vom Gewicht wird die dem Eisen entsprechende Menge abgezogen. Es kann noch 0,1% Al in Gegenwart der 1000fachen Menge Ti bestimmt werden.

[1] An. Asoc. Quím. argent. **45**, 121—125 (1957). Univ. Buenos Aires (Argentinien).
E. Förster

Cyanid und Sulfid. *Die Reaktion zum Nachweis von Cyanidion* mit Benzidin und Kupferacetat wird von S. P. Jankov[1] auf folgende Art empfindlicher gestaltet: Eine innige Mischung von 20 Teilen chemisch reinem und fein zerkleinertem Al_2O_3 und 1 Teil reinem Benzidin wird in einem Glasrohr von 6 mm ⌀ und 40 mm Höhe eingetragen, so daß eine Säule von etwa 20 mm Höhe entsteht. Auf diese gibt man 0,05 ml einer Lösung, die aus einem Gemisch von 100 ml einer 1%igen Lösung von $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$ und 5 ml 5%iger Essigsäure besteht, und anschließend 0,05 ml der zu untersuchenden Lösung. Bei Vorhandensein einer Mindestmenge von 0,15 μg CN^- erscheint nach einigen Sekunden Blaufärbung. Cl^-, Br^-, J^- und SCN^- geben die gleiche Reaktion mit Benzidin. Der Nachweis von 1 μg CN^- in Gegenwart von Cl^-, Br^- und J^- gelingt durch Anfeuchten des Adsorbenses mit 95%igem Äthanol vor Einführung der Reagentien in der genannten Reihenfolge.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 759 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Bulgarien.
E. Förster

Eine fluorimetrische und colorimetrische Bestimmung von Cyanid- und Sulfidionen, die von J. S. Hanker, A. Gelberg und B. Witten[1] ausgearbeitet worden ist, beruht auf der demaskierenden Wirkung dieser Ionen gegenüber Chelatkomplexen des Palladiums. Bei der fluorimetrischen Bestimmung läßt man die CN^-- bzw. S^{2-}-Ionen mit dem K-Pd^{II}-Salz der 8-Hydroxy-5-chinolinsulfonsäure reagieren und setzt die nach der Gleichung



frei gemachte Säure mit Magnesiumchlorid zum fluorescierenden Magnesiumsalz um, dessen Menge den CN^-- bzw. S^{2-}-Ionen proportional ist. In ähnlicher Weise wird bei der colorimetrischen Bestimmung die aus dem Palladiumsalz frei gemachte 8-Hydroxy-7-jodo-5-chinolinsulfonsäure mit Eisen(III)-chlorid in eine blaugrüne Verbindung übergeführt. — Fluorimetrisch können 0,02 μg Cyanid und 0,2 μg Sulfid je Milliliter erfaßt werden, colorimetrisch jeweils 1 μg g/ml. — *Ausführung. 1. Fluorimetrisch.* Zu 1 ml einer 1 n Natronlauge gibt man 1 ml der Probelösung,

1 ml Pufferlösung (77,4 g Glycin + 58,6 g NaCl im Liter), mit der man p_H 9,2 einstellt, ferner 1 ml der wäßrigen 0,01%igen Palladiumchelatlösung (siehe unten) und 1 ml 1%ige $MgCl_2$-Lösung. Die Intensität der Fluorescenz mißt man nach 8 min und vergleicht sie mit Eichkurven. *2. Colorimetrisch.* 1 ml einer 0,1 n Natronlauge versetzt man mit 1 ml der Probelösung, 1 ml der 0,2%igen Lösung von Kalium-bis-(7-jodo-5-sulfoxino)-palladium(II)-lösung und 1 ml einer $FeCl_3$-Lösung, die man durch Verdünnen einer 10%igen Lösung mit dem gleichen Volumen 1 n Salzsäure erhalten hat. Die Extinktion kann nach 1 min bei 650 mμ gemessen werden. Mit Lösungen bekannten Gehalts an CN^-- und S^{2-}-Ionen werden Eichkurven aufgestellt. — Zur Darstellung des *Chelatreagenses* gibt man 4,5 g 8-Hydroxy-5-chinolinsulfonsäure zu einer Lösung von 2,14 g $PdCl_2$ in 300 ml 5%iger Schwefelsäure, erhitzt zum Sieden und neutralisiert nach dem Abkühlen mit gesättigter K_2CO_3-Lösung. Das ausgefallene Palladiumchelat wird filtriert, mit 10%iger Kaliumcarbonatlösung, Wasser, Alkohol und Äther gewaschen und an der Luft getrocknet. — In analoger Weise wird das colorimetrische Reagens gewonnen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 93—95 (1958). Army Chem. Center, Md (USA).

G. Denk

Für die quantitative Bestimmung kleiner Mengen Germanium (10—30 μg/l) in annähernd 2 m $ZnSO_4$-Lösung geben A. Fernández-Segura, A. A. Garmendia und E. L. Pella[1] ein Verfahren an, bei welchem das Germanium durch Mitfällung an Eisen(III)-hydroxyd gesammelt, dann aus salzsaurer Lösung destilliert und schließlich im Destillat mit Phenylfluoron spektralphotometrisch bestimmt wird. 90% des vorhandenen Germaniums werden wiedergefunden. Die Methode ist vor allem für die Anwendung bei der *Elektroabscheidung des Zinks* bestimmt, bei der geringe Mengen Germanium einen wesentlichen Einfluß haben. — *Ausführung.* Man versetzt 1 l der zu untersuchenden (etwa 2 m) Zinksulfatlösung mit 20 ml $FeCl_3$-Lösung (25 mg Fe^{3+}/ml) und 3 g Zinkoxyd, erhitzt und hält 30 min unter ständigem Rühren auf 60° C. Nach dem Absitzen wird der Eisenhydroxydniederschlag von der überstehenden Flüssigkeit zunächst durch Dekantieren und von dem Flüssigkeitsrest durch Zentrifugieren (2500 U/min) abgetrennt. Man löst den Niederschlag in 20—30 ml konz. Salzsäure, ergänzt im Destillierkolben mit der Säure auf 100 ml und destilliert in eine mit 10 ml Wasser, 3—4 Tropfen Phenolphthaleinlösung und 7 ml 25%iger Natronlauge beschickte Vorlage (Abb. des Destillierapparates im Original), bis die rote Indicatorfarbe zu verschwinden beginnt. Das Destillat wird mit 5 ml 1%iger Lösung von Gummi arabicum, 10 ml konz. Salzsäure und 20 ml Phenylfluoronlösung [30 mg Phenylfluoron + 5 ml Schwefelsäure (1 + 5) + Äthanol zu 100 ml] versetzt und mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Nach 60 min wird die Durchlässigkeit bei 530 mμ gemessen. Zur Aufstellung der Eichkurve unterwirft man zweckmäßig eine $GeSO_4$-Lösung von bekanntem Gehalt dem vollständigen Analysengang und schaltet dadurch die Minusfehler von etwa 10% aus.

[1] An. Asoc. Quím. argent. **45**, 126—135 (1957). Establecimientos Metalúrgicos S.A.I.C., Zárate (Argentinien).

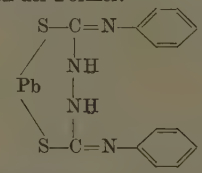
E. Förster

Fluorimetrische Reagentien auf zweiwertiges Zinn. In Zusammenhang mit früheren Arbeiten[1] untersuchen J. L. Garnett und L. C. Lock[2] das Verhalten von 13 von den 14 theoretisch möglichen Nitronaphthylaminen gegenüber Sn^{II}. Alle diese Stoffe sind sämtlich ebenso wie die früher[1] geprüften Monosulfosäuren als Zinnreagentien geeignet. Die maximale Empfindlichkeit (10^{-7} g Sn) wird in stark salzsaurer Lösung erreicht. Die Fluorescenz bleibt auch nach Behandeln mit Ammoniak erhalten. Andere Metallsalze (von denen 47 geprüft wurden) geben unter diesen Umständen keine Fluorescenzreaktion. Im allgemeinen reagieren die

Derivate der 2-Naphthylamine empfindlicher als die der 1-Naphthylamine und die intensivste Fluorescenz geben 5- und 6-Nitro-2-naphthylamine.

[1] Anderson, J. R. A., u. J. L. Garnett: Anal. chim. Acta **8**, 393 (1953); **17**, 452 (1957); J. R. A. Anderson und S. Lenzer-Lowy: Anal. chim. Acta **15**, 246 (1956); vgl. diese Z. **145**, 210 (1955); **156**, 141 (1957); **163**, 136 (1958). — [2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 574—578 (1957). N.S.W. Univ. of Technology, Sydney (Australien).
Klaus Brodersen

Blei. *Eine rasche gravimetrische Bleibestimmung* im Halbmikromaßstab läßt sich nach E. Popper, N. Ariton und R. Popa Crăciuneanu[1] durch Fällen mit einer Lösung des Anilids der Hydrazin-N,N′-bis-thiokohlensäure (1 g in 500 ml Alkohol) erzielen. Der Niederschlag von der Formel:



wird mit Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet (Faktor 0,40659). 200 μg Pb/ml können noch erfaßt werden.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **7**, 85—88 (1956) [Rumänisch]. (Nach franz. Zus.-fass. ref.) Fac. Farmac. I.M.F., Cluj (Rumänien). G. Denk

Eine rasche gravimetrische Mikrobestimmung von Blei läßt sich nach E. Popper, V. Junie und L. Popa[1] durch Fällen der neutralen oder schwach sauren Lösung mit 0,003—0,1 g Pb mit einer Lösung von 2-Mercapto-5-anilino-1,3,4-thiodiazol (1 g/100 ml Alkohol) durchführen. Der Niederschlag, der auch in Alkohol und Äther unlöslich ist, wird nach 20 min durch einen Filtertiegel filtriert, mit 40%igem Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet (Faktor 0,33218). 6 μg Pb/mol können noch ermittelt werden.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **7**, 89—94 (1956) [Rumänisch]. (Nach franz. u. russ. Zus.fass. ref.) Fac. Farmac. I.M.F., Cluj (Rumänien). G. Denk

Titan, Germanium, Zirkonium, Zinn und Thorium geben nach Untersuchungen von H. Sano[1] in äthanolischen Lösungen, die Cyclohexanol oder 0,25%ige, wäßrige Gummiarabicum-Lösung enthalten, mit *2,3,7,-Trihydroxy-9-phenylfluoron* Farbreaktionen[2]. Der Verf. nimmt die Absorptionsspektra der Chelate in Abhängigkeit vom p_H-Wert auf und diskutiert sie vom theoretischen Standpunkt aus. Das Maximum der Extinktion liegt für Titan bei 525 mμ, für Zirkonium bei 540 mμ, für Germanium und Zinn bei 510 mμ. Der Extinktionswert ist stark vom p_H-Wert der Lösung abhängig; er ist in 0,05 n salzsaurer Lösung groß (Titan = 1,4; Zirkonium = 0,6; Zinn = 0,25) und in 5 n salzsaurer Lösung bei allen Metallen = 0.

[1] Bull. chem. Soc. Japan **30**, 790—794 (1957). Univ. Hongo, Tokyo (Japan). — [2] Kimura, K., u. H. Sano: Bull. chem. Soc. Japan **30**, 80 (1957); vgl. diese Z. **159**, 63 (1957/58).
Klaus Brodersen

Einen Tüpfelnachweis von Hydrazin gründet B. R. Sant[1] auf die Reduktion von ammoniakalischer Silberlösung zu metallischem Silber. Hydroxylamin und andere reduzierende Substanzen stören. — *Ausführung.* Man gibt 1 Tr. der Probelösung und 1 Tr. 1%ige Natronlauge auf einer weißen Tüpfelplatte zu 1 Tr. 0,2 m Silbernitratlösung, rührt mit einem Glasstab um und fügt nach 1 min 1 Tr. konz.

Ammoniak hinzu, wodurch das Silberoxyd gelöst wird. Bei Anwesenheit von Hydrazin bleibt ein schwarzer Rückstand von metallischem Silber. 0,1 μg N_2H_4 können bei einer Verdünnung von 1 : 1000000 noch erkannt werden. — Die Reaktion kann auch auf einem Filtrierpapier durchgeführt werden. Man mischt dazu die Probelösung mit dem gleichen Volumen 1%iger Natronlauge und gibt einige Tropfen des Lösungsgemisches auf das Filtrierpapier, welches mit Silbernitratlösung getränkt und dann getrocknet worden ist. Nach 1 min legt man das Papier in verdünntes Ammoniak; es hinterbleibt ein schwarzer Fleck von Silber. Die Nachweisgrenze liegt bei 0,05 μg N_2H_4 bei einer Verdünnung von 1 : 500000.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1958**, 169—170. Hindu-Univ. Banaras (Indien).
G. Denk

Phosphat. *Zur raschen gravimetrischen Bestimmung von Phosphat* fällen M. Vancea, C. Liteanu und M. Voluşniuc[1] die salpetersaure Lösung mit Wismutnitratlösung, glühen den Rückstand bei 700—800° C und wägen nach dem Abkühlen das $BiPO_4$. Man kann auch den Niederschlag nach der Filtration durch einen Filtertiegel mit Alkohol und Äther waschen, im Vakuumexsiccator trocknen und als $BiPO_4 \cdot {}^1/_3 H_2O$ zur Auswaage bringen. Die Bestimmungen dauern 1 bzw. $^1/_2$ Std Ca, Fe und Al stören nicht. Die Fällungslösung darf nicht mehr als 2% freie Salpetersäure und etwa 5 g Bi/l enthalten.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **7**, 101—110 (1956) [Rumänisch]. (Nach franz. Zus.fass. ref.) Fil. Cluj, Acad. R.P.R. (Rumänien). G. Denk

Über neuere Erkenntnisse bei der Bildung der Phosphormolybdänblaukomplexe und ihre Bedeutung für die photometrische Phosphatbestimmung berichten K. Schriever, E. Bamann und R. Toussaint[1]. Sie geben zunächst eine Übersicht über die Entwicklung seit der Entdeckung der Dodekamolybdatophosphorsäure und ihre Reduktion zu blauen Komplexen und beschäftigen sich mit dem Aufbau und der Bildung phosphathaltiger Molybdänblauverbindungen. Auf diese Untersuchungen baut sich folgende exakte Phosphatbestimmung auf. — *Ausführung.* 1,0 ml Probelösung werden unter Umschütteln mit 3,0 ml Molybdän-Schwefelsäure (4 g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ in 100 ml 5n Schwefelsäure) sowie 10 ml Wasser versetzt und 10 min im Thermostat bei 37° C gehalten. Jetzt fügt man 1 ml Reduktionslösung zu und beläßt weitere 20 min bei 37° C. Nach dieser Zeit wird die Messung mit Grünfilter durchgeführt. Die Einmeßkurve wird mit Phosphor-Standardlösung unter den gleichen Bedingungen aufgestellt und reicht von 5—95 μg P/ml. Der Maximalfehler wird bei der oberen Erfassungsgrenze mit $\pm 1\%$ angegeben. Si, As, Ge und B stören, da sie ebenfalls Komplexe bilden. Citronen-, Wein-, Oxal-, Äpfelsäure und andere Hydroxy- und Aminocarbonsäuren vermindern durch Komplexbildung die Bildung und Reduktion der Heteropolysäure. Ebenso stören Fe^{II}, Sn^{II} sowie Nitrit- und Peroxyd-Ionen. — *Reduktionslösung.* 75 g $Na_2S_2O_5$ + 5 g $Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$ werden in etwa 800 ml Wasser gelöst, man trägt 135 mg umkristallisierte 2-Hydroxy-1-amino-naphthalin-4-sulfonsäure ein, gibt eine Lösung von 3,4 g 1-Amino-naphthalin-4-sulfonsaures Natrium in 100 ml Wasser dazu und füllt auf 1 l auf. Dieses Reagens ist einige Monate haltbar.

[1] Dtsch. Apotheker-Ztg. **97**, 889—892 (1957). Univ. München. H. Pohl

Zur Bestimmung von Niob und Tantal nebeneinander beschreibt V. Patrovský[1] ein Verfahren, das auf einer Farbreaktion von Brenzcatechin mit Nb, bzw. Ta in Gegenwart von Äthylendiamintetraacetat (ÄDTA) beruht. Die entstehenden Farbkomplexe enthalten auf 1 Atom Ta oder Nb 1 Mol ÄDTA und eine bisher unbekannte Molzahl Brenzcatechin. Die maximale Farbintensität wird bei p_H 2,5 $\pm$ 0,2 erreicht. Der Tantalkomplex ist gelb gefärbt und hat sein Absorptionsmaximum im UV-Gebiet. Die Messungen erfolgen aber bei 409 mμ, weil Wolfram bei dieser

Wellenlänge dreimal weniger stört als bei 370 mμ. Das Absorptionsmaximum des roten Niobkomplexes liegt bei 470 mμ. In den Konzentrationsbereichen von 0,05 bis 2,50 mg Ta_2O_5 bzw. 0,01—0,7 mg Nb_2O_5 je 25 ml Lösung ergeben sich lineare Eichkurven. Die Bildung des Niobkomplexes wird durch Oxalat, die des Tantalkomplexes durch Tartrat zurückgedrängt. Das Bestimmungsverfahren wird für die Untersuchung von Niob-Tantaloxydgemischen empfohlen, die man erhält, wenn man die beiden Metalle nach den üblichen Verfahren gemeinsam aus der zu untersuchenden Probe isoliert. Die Tantalbestimmung ist dann ohne erheblichen Fehler möglich neben 5% TiO_2, 25% WO_3, neben der gleichen Menge Eisen und der fünffachen Menge Niob. Niob kann neben der fünffachen Menge Tantal bestimmt werden, wenn nicht mehr als 1,6 mg Gesamtoxyde in 25 ml Lösung vorhanden sind. Außerdem können bei der Niobbestimmung, ohne zu stören, die 5fache Menge Wolfram, die 3fache Menge Eisen und die gleiche Menge Titan zugegen sein. Anwesendes Zinn wird durch Abrauchen mit Ammoniumchlorid entfernt, doch können kleine Mengen Zinn auch in der Probe belassen werden. Liegen Niob und Tantal in der Probe in ungünstigem Mengenverhältnis vor, so ist eine Vortrennung, z. B. nach dem Tanninverfahren, erforderlich. Es wird dann nur das in kleinerer Menge vorhandene Metall bestimmt. — *Ausführung.* Wenn das Mengenverhältnis von Nb und Ta nicht größer als 1 : 5 ist, schließt man 0,2 g Probe in bekannter Art mit 3 g Kaliumhydrogensulfat auf. Zur *Niobbestimmung* löst man die abgekühlte Schmelze nach Zusatz von etwa 1 g Weinsäure in 5 ml Wasser in der Wärme, füllt mit Wasser auf 25 oder 50 ml auf, versetzt einen nicht mehr als 0,7 mg Nb_2O_5 enthaltenden Anteil mit 5 ml 0,1 m ÄDTA-Lösung (Dinatriumsalz), 0,5 ml 5%iger Weinsäurelösung und 5 ml 10%iger Brenzcatechinlösung, säuert mit Ameisen- oder Essigsäure auf etwa p_H 2,5 an und erhitzt zum Sieden. Nach halbminutigem Kochen kühlt man, füllt mit Wasser auf 25 ml auf und mißt bei 470 mμ (Blaufilter). *Tantalbestimmung.* Die abgekühlte Schmelze wird nach Zusatz von 1 g Ammoniumoxalat mit 5 ml Wasser bis zur Lösung gekocht, abgekühlt und mit gesätt. Ammoniumoxalatlösung auf 25 oder 50 ml aufgefüllt. Ein höchstens 3 mg Ta_2O_5 enthaltender Anteil wird mit 5 ml 0,1 m ÄDTA-Lösung, 5 ml 10%iger Brenzcatechinlösung und etwa 0,5 g Ammoniumoxalat versetzt, mit Essigsäure auf etwa p_H 2,5 angesäuert und mit gesätt. Ammoniumoxalatlösung auf 25 ml aufgefüllt. Die Messung erfolgt bei 409 mμ (Violettfilter).

[1] Chem. Listy **52**, 255—261 (1958) [Tschechisch]. Geolog. Zentralinst. Prag (ČSR).
H. Kurtenacker

Der Oxinkomplex des Molybdäns, $MoO_2(Ox)_2$, sollte nach älteren Angaben[1] im p_H-Bereich 3,60—7,33 quantitativ ausfallen. Bei der Überprüfung dieser Angabe stellt D. V. Ramana Rao[2] aber fest, daß sich kein Niederschlag bildet, wenn man Natriummolybdatlösung mit Oxinlösung bei höheren p_H-Werten als p_H 2,24 titriert. Der Oxinkomplex bildet sich also oberhalb dieses p_H-Wertes nicht. Daher kann bei der Uranbestimmung mit Oxin[3] ein ÄDTA-Zusatz zur Maskierung des Molybdäns unterbleiben, da das Molybdän bei dem p_H-Wert der Uranbestimmung (8,1—8,9) nicht als Oxinat ausfällt. Auch die Titanbestimmung mit Kupferron[4] wird durch Molybdän nicht gestört, weil man bei der Fällung einen p_H-Wert von 4,3—7,0 einhalten muß. Der ÄDTA-Zusatz zur Molybdän-Maskierung kann hier ebenfalls unterbleiben.

[1] Fleck, H. R., u. A. M. Ward: Analyst **58**, 388 (1933); vgl. diese Z. **104**, 221 (1936). — [2] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **17**, 538—540 (1957). Ravenshaw College, Cuttack (Indien). — [3] Sen Sarma, R. S., u. A. K. Mallik: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **12**, 329 (1955); vgl. diese Z. **148**, 232 (1955/56). — [4] Majumdar, A. K., u. J. B. R. Chowdhury: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 105 (1956); vgl. diese Z. **156**, 142 (1957).
Klaus Brodersen

Schnellverfahren der Uranbestimmung in Lösungen durch Lumineszenzmessung. Bei der Lumineszenzbestimmung des Urans durch Eintauchen einer NaF-Perle in die Prüflösung, Glühen der Perle und Vergleichen der Lumineszenzstärke im Fluorimeter mit Vergleichsgläsern können Fremdelemente das Ergebnis stark verfälschen. Es sind dies Elemente mit farbigen Oxyden (Pb, Cu), ferner solche die eine Farbveränderung der Lumineszenz bewirken (Cu, Mg, Ba, Cd), hauptsächlich aber jene, die die Lumineszenz auslöschen (V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni). In solchen Fällen kann man nach Mitteilung von A. F. Fioletova[1], ohne die störenden Beimengungen zu entfernen, auf zweierlei Art dennoch zu brauchbaren Ergebnissen (mit $\pm 10\%$ mittlerem relativem Fehler) gelangen: einerseits durch Verdünnen der Lösung, anderseits durch Zugabe einer bekannten geringen Menge verhältnismäßig konz. Uranlösung ($1 \cdot 10^{-3}$ oder $1 \cdot 10^{-4}$ g/ml). Beim Verdünnen einer Lösung, z. B. auf das 10fache, wird der Einfluß der störenden Beimengungen in den meisten Fällen praktisch ausgeschaltet, während die Lumineszenz des Urans viel langsamer abnimmt. Bei der Zugabe einer kleinen Menge konz. Uranlösung bedarf die Volumänderung der Prüflösung keiner Korrektur. Mit diesen beiden Kunstgriffen kann der Urangehalt einer Lösung mit weniger als $1 \cdot 10^{-7}$ g U/ml auch in Gegenwart störender Ionen befriedigend bestimmt werden.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 718—719 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.).

A. v. Wilpert

Die Schnellmikrobestimmung von Fluor beschreiben H. Ballczo, G. Doppler und A. Lanik[1]. Sie verbessern die Destillationsmethode insofern, als sie die Bestimmung nicht im Destillat der Wasserdampfdestillation durchführen, sondern den Fluorwasserstoff direkt aus der Gasphase in dem in Abb. 1 wiedergegebenen Gefäß absorbieren. Der durch eine Düse austretende Gasstrom reißt die Absorptionsflüssigkeit mit, wodurch eine intensive Aufnahme des Gases unabhängig von der Strömungsgeschwindigkeit gewährleistet ist. Als Absorptionsmittel dient Aluminiumchlorid, mit dem der Fluorwasserstoff in Gegenwart von Na-Ionen Kryolith bildet. Das überschüssige Aluminium in der Absorptionsflüssigkeit wird colorimetrisch mit Chromazurol S bestimmt. — *Ausführung.* Die Probe wird mit $53{,}6\%$iger Perchlorsäure in den Destillationskolben gespült, das Absorptionsgefäß mit 1 ml Aluminiumchloridlösung in 0,001 n Salzsäure (45 μg bzw. 450 μg Al für Mengen bis zu bzw. über 30 μg Fluorid) und 10 ml 20%iger Natriumnitratlösung beschickt und 15 min bis 1 Std destilliert. (Zur Vermeidung von Störungen durch Chlorid, Silicat bzw. Sulfid setzt man eine Spatelspitze Silbersulfat bzw. etwas Zirkoniumoxychlorid zu und führt eine Silberspirale ein.) Die Absorptionsflüssigkeit wird unter Nachspülen mit 0,001 n Salzsäure in einen 100 ml-Meßkolben übergeführt. Erwartet man weniger als 30 μg Fluorid, so gibt man 10 ml Chromazurol S-Lösung (siehe unten), 2 ml Pufferlösung vom p_H-Wert 4,25 (110 g NH_4Cl + 130 ml Eisessig + 30 ml konz. Ammoniak auf 1 l) und 20 ml Alkohol zu und füllt mit 0,001 n Salzsäure auf. Bei größeren Mengen wird zwischenverdünnt. Man mißt nach mindestens 3 und höchstens 30 Std die Extinktion gegen eine Blindprobe bei 550 mμ im Beckman-Spektralphotometer, Modell B, unter Anwendung von 1 cm-Zellen. Der Gehalt an

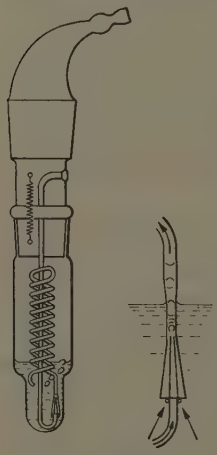


Abb. 1. Absorptionsgefäß nach Ballczo, Doppler u. Lanik

Fluorid wird aus einer Eichkurve entnommen. — *Chromazurol S-Lösung.* In 1,7 l Wasser löst man 67,0 g Ammoniumchlorid, 15 ml Eisessig und 6,25 g Gummiarabicum, das vorher durch Erwärmen auf etwa 70° C in 100 ml Wasser vollständig gelöst und filtriert worden ist. Dann gibt man eine Lösung von 0,700 g Chromazurol S in 50 ml 0,1 n Salzsäure zu und bringt mit Ammoniak auf p_H 4,25. Die Lösung wird filtriert, zur Verhinderung von Schimmelbildung wird ein Thymolkristall zugefügt.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 809—822. Univ. Wien (Österreich). E. Förster

Die Bestimmung von Chlordioxyd in Lösung gründen I. E. Flis und M. K. Bynjaeva[1] auf die Umsetzung mit Wasserstoffperoxyd, die in alkalischem Mittel fast augenblicklich nach den Gleichungen: $2ClO_2 + Na_2O_2 \rightarrow 2NaClO_2 + O_2$; $2ClO_2 + 2HO_2^- \rightarrow 2ClO_2^- + 3/2O_2 + H_2O$ erfolgt. Das entstandene Chlorit wird nach Zerstören des H_2O_2-Überschusses jodometrisch bestimmt. Die mitgeteilten Versuche zeigen, daß Chlorit bei p_H 10,5—11 durch 5 min langes Kochen mit 3—8 Tr. 3%igem Wasserstoffperoxyd nicht angegriffen wird. Man versetzt also die mit NaOH auf p_H 10,5—11 gebrachte ClO_2-Lösung mit einem Überschuß von einigen Tropfen 3%igem Wasserstoffperoxyd, kocht 5 min und führt dann die jodometrische Titration durch. Der Gehalt der Probe an ClO_2 muß 0,0005 Grammäquivalente übersteigen. Die Analysendauer beträgt im allgemeinen nicht mehr als 7—10 min. Das Verfahren gestattet die Bestimmung von Chlordioxyd in Gegenwart von Chlorit, Chlorat, Chlorid und Carbonaten. Es kann für die Nebeneinanderbestimmung von Chlordioxyd und Chlorit in Bleichlösungen dienen.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 740—743 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Technolog. Inst. Leningrad. E. Förster

Zur quantitativen Bestimmung von Mangan (MnO_4^-) in Anwesenheit anderer Schwermetallionen empfehlen N. Ja. Chlopin und L. G. Gein[1] die polarographische Differentialtitration mit 0,1 n KBr-Lösungen, wobei das Mangan aus der siebenwertigen zur dreiwertigen Stufe reduziert wird. Verff. titrieren in 3 n H_2SO_4 aus einer in 0,01 ml geteilten Mikrobürette. Orthophosphorsäure und Salpetersäure stärker als 0,05 n stören, da sie die Bildung von Mn^{3+} an Stelle von Mn^{3+} fördern. Höhere Temperaturen (40—60° C) führen zu einem — nicht quantitativen — Weiterschreiten der Reduktion in den Mn^{2+}-Zustand. $P_2O_7^{4-}$ und F^--Ionen halten die Reduktion zwar auf der gewünschten Mn^{3+}-Stufe fest, führen aber zu sehr kleinen Reaktionsgeschwindigkeiten. $Cr_2O_7^{2-}$, VO_3^-, Co^{2+}, WO_4^{2-}, MoO_4^{2-}, Cu^{2+}, Ni^{2+}, Fe^{3+}, Pb^{2+} und Persulfat stören nicht. Ag^+ führt zur AgBr-Abscheidung, danach kann aber Mangan in der gleichen Lösung titriert werden.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 561—563 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Staatl. Pharmaz. Inst., Molotov. H. Wunderlich

Kobalt. *Bemerkungen zum Nachweis des Kobalts* K. N. Bagdasarov, P. N. Kovalenko und S. S. Melnikova[1] zeigen durch einige einfache Versuche, daß die Blaufärbung beim Nachweis des Kobalts mit Thioharnstoff, Thiosulfat und anderen Substanzen nicht etwa einer, wie mitunter angenommen wird, Komplexbildung zuzuschreiben ist, sondern der Entwässerung der Aquokomplexe des Kobalts; denn dieselbe blaue Färbung entsteht auch bei Behandlung von Co-Salzen mit anderen wasserentziehenden Mitteln. Sie verschwindet bei Wasserzusatz und tritt auch ohne die Gegenwart von Thioharnstoff auf, wenn man Filtrierpapier mit Kobaltsalzlösung tränkt und trocknet. P_2O_5, konz. Salzsäure, wasserfreie Schwefelsäure, $CaCl_2$ usw. bringen mit Co-Salz die Blaufärbung hervor.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 564—565 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Univ. Rostov/Don. A. v. Wilpert

Zum Nachweis und halbquantitativen Bestimmung von geringen Kobaltmengen neben Nickel eignet sich nach I. KRAUSZ und I. MOLNÁR[1] die Chromatographie im Reagensglas mit einem Papierstreifen von neuer Form. Der Streifen, am besten aus Filtrierpapier Schl. & Sch. 2043/B ist etwas kürzer als die Eprouvette, an beiden Enden etwa 8, sonst ungefähr 3 mm breit. Als Lösungsmittel bewährt sich eine Mischung von Äthanol und Salzsäure 9 : 1. Von dieser füllt man eine etwa 1 cm hohe Schicht in die Eprouvette, tropft die Versuchslösung auf den unteren Teil des Papiers, taucht das Ende in das Lösungsmittel und verschließt die Eprouvette. Nach 15—20 min erscheint bei R_f 0,6 ein blauer Fleck, wenn mehr als 8—10 μg Kobalt zugegen sind. Der Fleck stammt von dem blauen $(CoCl_4)^-$-Ion, er verblaßt an feuchter Luft. Gibt man zum Lösungsmittel 2% Ammoniumrhodanid, so beträgt die Erfassungsgrenze 1 μg Kobalt. Durch Vergleich von Chromatogrammen verschiedener Kobaltkonzentration ist die halbquantitative Bestimmung von 5—100 μg Kobalt neben 5—1000 μg Nickel mit $\pm$ 5 μg Genauigkeit ausführbar.

[1] Magyar Kémini Folyóirat **63**, 358 (1957) [Ungarisch] (mit dtsch. Zus.fass.), Univ., Budapest. J. PLANK

Die colorimetrische Bestimmung von Palladium mit *Diallyldithiocarbamidohydrazin* (Dalzin)[1] wird von N. K. DUTT und K. P. SEN SARMA[2] beschrieben. Der orangerote Komplex mit der Zusammensetzung Pd:Dalzin = 1:1, der sich dabei bildet und der bis 40° C stabil ist, kann mit Chloroform extrahiert werden. Zwischen p_H 1,2 und 2,6 liegt sein Absorptionsmaximum bei 365 mμ. Der günstigste p_H-Bereich ist 1,2—1,3. Das Beersche Gesetz gilt von 0,4—2 μg Pd.

[1] Vgl. auch DUTT, N. K., u. K. P. SEN SARMA: Anal. chim. Acta (Amsterdam) **15**, 21, 102 (1956); Sci. and Cult. **22**, 283, 293, 344 (1956); vgl. diese Z. **155**, 352, 353 (1957). — [2] Sci. and Cult. **23**, 249 (1957). Univ. Coll. Sci., Calcutta (Indien). G. DENK

Trennung von Pt, Pd, Rh und Ir durch Papierelektrochromatographie. W. M. MCNEVIN und M. L. DUNTON[1] berichten über systematische Untersuchungen zur Trennung von Pt^{IV}, Pd^{II}, Rh^{III} und Ir^{IV} nach E. L. DURRUM[2] am vertikal aufgehängten Streifen (Eaton-Dikeman-Papier Nr. 652, 2,5 × 30 cm) und in horizontaler Lage ähnlich dem Verfahren von F. L. WARD und M. LEDERER[3]. Ausgenützt wird die unterschiedliche Wanderung der Komplexe mit ÄDTA, die in Abhängigkeit von der ÄDTA-Konzentration, vom p_H-Wert und von Alterungseinflüssen (Bildung von Hydroxy- bzw. Aquo-Komplexen) eingehend untersucht wird. — Als beste *Arbeitsweise* für die quantitative Trennung wird angegeben: Die Lösung der Chloride wird eingedampft und in 0,1 n Salzsäure aufgenommen, so daß die Gesamtkonzentration an Metall höchstens 0,05 m ist. Die Lösung wird mit verdünnter Natronlauge versetzt, bis sämtliche Niederschläge wieder gelöst sind, mit Salzsäure wird sofort auf p_H 2—3 angesäuert und mit ÄDTA versetzt (2—3 Mol je Mol Metall), mit Natronlauge auf p_H 9 eingestellt und auf ein bekanntes Volumen (1 ml) aufgefüllt.

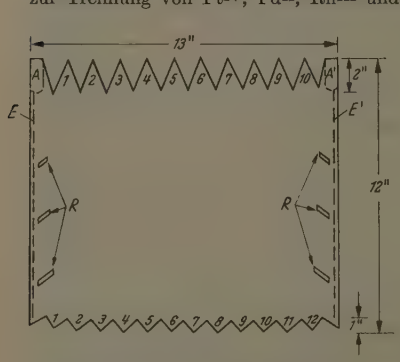


Abb. 1. Papierbogen für die kontinuierliche Chromatographie nach MCNEVIN u. DUNTON

0,1 ml werden dann horizontal 45 min mit 500 V elektrochromatographiert. Der Streifen muß zuvor mit 0,1 m ÄDTA-Lösung bei p_H 9 gewaschen werden. Man weist die Metalle mit Zinn(II)chlorid-Kaliumjodidlösung[4] nach. Rh verbleibt als Hydroxyd am Startfleck, Pd, Pt und Ir wandern mit in dieser Reihenfolge wachsender Geschwindigkeit zur Anode. — Zur kontinuierlichen Trennung nach DURRUM[2] werden 280×330 cm große Papierbogen verwendet, die entspr. Abb. 1 zugeschnitten sind. Die Zugabe der Lösung erfolgt unterhalb der Zunge 3. Durch Papierauflagen *A*, *A'* wird den Elektroden *E*, *E'* eine größere Lösungsmittelmenge zugeführt, die einen Einfluß der Zersetzungsprodukte vermindert und außerdem als Kühlung dient. Die Riegel *R* sind ebenfalls zur Hemmung einer Diffusion von Elektrodenreaktionsprodukten angebracht. Der Zufluß der ÄDTA-Lösung wird durch die Eintauchtiefe der oberen Zungen geregelt, die z. B. für die Trennung von Pt-Pd gerade die halbe Zungenlänge betragen muß. In 2,5 Std fließen dann beide Metalle (bis zu 100 mg) bei Elektrolyse mit 130 V (120 Milliamp.) getrennt ab. Das Gleiche gilt für die Trennung von Pd und Ir bei 120 V. Die Trennungen Rh-Ir, Rh-Pt, Rh-Pd werden mit 0,1 m Versenelösung vom p_H-Wert 4 ausgeführt (Elektrolyse mit 150—140 V), ebenso die Trennung von Rh, Pd und Ir. Alle vier Metalle lassen sich nach dieser Methode nicht trennen.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1806—1809 (1957). Univ. Columbus, Ohio (USA). — [2] J. Amer. chem. Soc. **73**, 4875 (1951). — [3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **6**, 355 (1952); vgl. diese Z. **138**, 387 (1953). — [4] BURSTALL, F. H., G. R. DAVIES, R. A. WELLS u. R. P. LINSTEAD: J. chem. Soc. (London) **1950**, 516; vgl. diese Z. **137**, 36 (1952/53).

K. CRUSE

III. Analyse organischer Stoffe

2. Qualitative und quantitative Analyse

Eine Ultramikromethode zur Bestimmung von Molekulargewichten organischer Verbindungen teilt G. O. GUERRANT[1] mit. Mit weniger als 1 mg Probe führt Verf. eine isotherme Destillation durch. Der Vorteil dieses Verfahrens liegt darin, daß keine große Reinheit der verwendeten Lösungsmittel erforderlich ist. Es wird besonders zur Bestimmung von Molekulargewichten von Petroleumfraktionen empfohlen. — *Ausführung.* Die Apparatur besteht aus einem unter kugelförmig erweiterten Glasrohr, das mit einer Schliffkappe verschlossen wird. An einer Spirale aus Wolframdraht, die als Federwaage dient, hängt ein Schälchen aus Al-Folie. Die Spirale wird mit bekannten Gewichten geeicht. Mehrere solcher Apparaturen befinden sich nebeneinander in einem Luft-Temperaturbad, das auf 37 ± 0,003° C konstant gehalten wird. Man stellt sich 0,05, 0,10 und 0,15 m Standardlösungen einer geeigneten Vergleichssubstanz bekannten Molekulargewichts im wasserfreien Lösungsmittel (Kp 100° C) her. Für Petroleumfraktionen wird Octadecan in Benzol benutzt. — Die Apparatur wird mit dem zu verwendenden Lösungsmittel gespült. Dann wird die Probe auf Glasfaserpapier gewogen und mit diesem auf das Al-Schälchen gelegt. Mit einem Kathetometer registriert man den Stand des Schälchens. In den unteren Teil des Gefäßes gibt man nun etwa 100 ml 0,1 n Standardlösung und verschließt die Apparatur. Es destilliert soviel Lösungsmittel auf das Schälchen, bis gleicher Dampfdruck erreicht ist. Die Probe soll so bemessen sein, daß etwa 20 mg Lösungsmittel überdestillierten. Nach 3 Tagen liest man wieder am Kathetometer ab. Das Molekulargewicht wird nach der Formel $M = 1000 \cdot w/m \cdot s$ (w = Gewicht der Probe, m = Grammolarität der Standardlösung, s = Gewicht des überdestillierten Lösungsmittels) berechnet. Der untere Teil des Gefäßes wird

jetzt ausgetauscht und so noch in gleicher Weise mit 0,05 m und 0,15 m Standardlösung gemessen. Man extrapoliert graphisch und erhält Werte mit einer Genauigkeit von 3%. Der Schmelzpunkt der zu untersuchenden Substanz soll über 275° C liegen.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 143—149 (1958). Shell Developmt. Co., Houston, Tex. (USA). MARGOT ZIMMERMANN

Photocolorimetrische Methode der Bestimmung der Phenoxygruppen in organischen Siliciumverbindungen. Das von A. P. KREŠKOV und V. A. BORK[1] beschriebene Verfahren gründet sich auf die hydrolytische Abspaltung der Phenoxygruppen als Phenol und dessen nachfolgende photocolorimetrische Bestimmung nach der grünblauen Färbung des Indophenols, das sich bei Einwirkung von Chlor- oder Bromwasser in Gegenwart von NH_4OH bildet. — *Ausführung.* Zu der in 5—6 ml Alkohol gelösten Probe gibt man 4 ml konzentriertes Ammoniak und erwärmt 3—4 min auf dem Wasserbade unter Rückfluß. Die vom Niederschlag abfiltrierte Lösung und die Waschwässer werden in einem Kölbchen auf 25 ml aufgefüllt. Zur Lösung gibt man 30 Tropfen Chlor- oder Bromwasser und erhitzt 5 min auf dem Wasserbade unter Rückfluß, wobei sich die Lösung grünlichblau färbt. Für die Anfertigung der Eichkurve dient eine alkoholische Phenollösung, die 10 mg Phenol/ml enthält. — Die Bestimmung der Phenoxygruppen in Tetraphenoxysilan ergab eine Abweichung von 0,83%, die in Phenyltriphenoxysilan eine solche von — 0,27% mit Chlorwasser und von 0,1% mit Bromwasser.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 764 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.). Mendelejev-Inst. f. Chem. Technolog., Moskau. E. FÖRSTER

Die polarographische Bestimmung von Acetylen (I), Vinylchlorid (II), 1,2-Dichloräthylen (III) und 1,1,2-Trichloräthylen (IV) gelingt nach V. MEDONOS[1], indem man die Verbindungen in ihre Bromderivate überführt, die sämtlich charakteristische Stufen liefern. Die Bromaddition an die Doppelbindungen erfolgt bei genügendem Bromüberschuß und ausreichend langer Einwirkungszeit quantitativ. Der Verf. empfiehlt Bromaddition in Eisessig und nach Beseitigung des Bromüberschusses Polarographie der mit 80%iger Essigsäure unter Benutzung von Natriumacetat als Grundelektrolyt verdünnten Lösung. Während zur Bromierung von I, III und IV 0,05 m Lösungen der Proben mit 5 m Bromlösung in Eisessig zu behandeln sind, genügt für II bereits eine 1 m Bromlösung und eine wesentlich kürzere Einwirkungszeit. Man kann die Verbindungen I bis IV nicht nur einzeln, sondern auch in Gemischen bestimmen; ausgenommen sind Gemische von III und I sowie III und II, deren Stufen ineinander überzugehen pflegen. Das letzte Gemisch kann aber durch passende Wahl der Bromierungsbedingungen analysiert werden. — *Ausführung.* Von der Probe bringt man soviel in einen 75 ml Eisessig enthaltenden 100 ml-Meßkolben, daß die Probe nach dem Auffüllen mit Brom-Essigsäurelösung 1:1 bis zur Marke in der Konzentration 0,05 m vorliegt. Man läßt 24 Std stehen, füllt 10 ml der Lösung in ein graduiertes Reagensglas und vertreibt mittels einer bis zum Boden reichenden Capillare durch Kohlendioxyd oder Stickstoff den Bromüberschuß bis zur Hellgelbfärbung der Lösung. Gleichzeitig kann man zur Beschleunigung auf dem Wasserbad auf 50—60° C erwärmen. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur ergänzt man das Volumen mit Eisessig bis zur Marke, schüttelt, entnimmt 1 ml, verdünnt mit 10 ml 3 m Natriumacetatlösung in 80%iger Essigsäure und polarographiert nach Durchleiten von Stickstoff. — *Bestimmung von II neben III.* Man bestimmt II in einer gesonderten Probe, die bis zu einer Molarität von etwa 0,05 in eine 1 m Bromlösung in Eisessig gebracht wird. Man läßt 10—20 min stehen und verfährt weiter wie vorhin angegeben. In einer Parallelprobe

ermittelt man die Gesamtkonzentration von II und III und berechnet die Menge des letzteren aus der Differenz.

[1] Chem. Listy **52**, 31—35 (1958) [Tschechisch]. Chem.-technol. Hochsch. Prag.
H. Freytag

Die Mikrodiffusion der aliphatischen Monocarbonsäuren mit 1—5 Kohlenstoffatomen in Conway-Zellen haben L. M. Marshall und F. T. Fox[1] in der Absicht untersucht, Identifizierungs- und Trennungsmöglichkeiten für kleine Mengen dieser Säuren aufzufinden und gleichzeitig die in Betracht kommenden Gesetzmäßigkeiten festzustellen. Es zeigt sich, daß die Diffusionsgeschwindigkeit aus wäßriger Lösung ähnlichen Gesetzen unterliegt wie die von E. Duclaux[2] beschriebene Verflüchtigung der Säuren mit Wasserdampf. Die normalen und verzweigten Isomeren von Butter- und Valeriansäure zeigen charakteristische Unterschiede in der Diffusionsgeschwindigkeit. Ameisen-, Essig- und Propionsäure sind in wäßriger Lösung durch die Diffusion wenig unterschieden, dagegen sind aus nicht wäßrigen Lösungen (Benzol, Chloroform, Cyclohexan, Heptan usw.) erhebliche Verschiedenheiten entsprechend den unterschiedlichen Dampftensionen im reinen Zustand festzustellen. Aus Cyclohexan, Heptan und Benzol entweichen die Säuren am raschesten. Aus Lösungsmittelgemischen, z. B. Butanol-Chloroform nimmt die Diffusionsgeschwindigkeit mit steigendem Butanolgehalt ab; sie läßt sich aber nicht aus den Verhältnissen in den reinen Lösungsmitteln voraussehen. Auf die Diffusionsgeschwindigkeit haben auch die Temperatur und die Gesamtmenge der angewandten Lösung einen erheblichen Einfluß. Die Bestimmung der Diffusionsgeschwindigkeit kann eine gute Ergänzung der Chromatographie an Silicagelsäulen sein. — *Arbeitsweise.* 100—200 mg der 2%igen, wäßrigen Lösung der organischen Säuren werden in den äußeren Teil der Conway-Zelle und 3 Plätzchen NaOH in den inneren Teil gebracht. Die verschlossene Zelle wird bei konstanter Temperatur (20° oder 32° C) mit 90 Bewegungen/min 1—3 Std lang geschüttelt. Dann bringt man die Lösung aus dem äußeren Teil in einen Erlenmeyer-Kolben und bestimmt durch Titration mit 0,0015 n Natronlauge, die 10 mg Thymolblau als Indicator enthält, die zurückgebliebene Säure.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 140—143 (1958). Robert A. Taft Sanitary Engng. Center, Cincinnati. Ohio (USA). — [2] Ann. Chim. Physique **2**, 289 (1874). — Traité de Microbiologie (Paris) **3**, 384 (1900). Margot Zimmermann

Zur spektralphotometrischen Bestimmung kleiner Mengen Schwefelkohlenstoff (100—600 μg) läßt sich nach M. J. Maurice und J. L. Mulder[1] die im nahen Ultraviolett bei 301—304 mμ gelegene Absorptionsbande des Kaliumäthylxanthogenats heranziehen, deren Lage und Höhe etwas vom jeweiligen Lösungsmittel abhängt (96%iges Äthanol: λ_{max} = 304 mμ; ε = 18310; 50%iges Äthanol: λ_{max} = 301,5 mμ, ε = 18330; 0,05 n KOH in 50%igem Äthanol: λ_{max} = 301 mμ; ε = 17820; 0,02 n NaOH: λ_{max} = 301 mμ; ε = 17420). Die im Absorptionsmaximum mit einem Unicam-Spektralphotometer SP 500 in 1 cm-Küvetten gegen reines Lösungsmittel gemessenen Extinktionen folgen dem Beerschen Gesetz bis zu Gehalten von etwa 5 μg CS_2/ml. Die Extinktionen sind etwa 1 Std lang beständig. Der mittlere Bestimmungsfehler ist mit 0,022 μg CS_2/ml angegeben. — *Arbeitsvorschrift.* Der zu bestimmende Schwefelkohlenstoff wird durch Absorption in 50 ml 0,1 n äthanolischer Kalilauge in das Kaliumxanthogenat übergeführt. Die Extinktion E der mit Wasser zu genau 100 ml verdünnten Lösung wird dann bei 301 mμ gegen eine entsprechende Blindprobe gemessen. Dann füllt man mit Hilfe einer Injektionsspritze in ein dünnwandiges, gewogenes Röhrchen etwa 500 mg analysenreinen Schwefelkohlenstoff ein, schmilzt mit kleiner Flamme zu und wägt zurück. Das Röhrchen bringt man in einen mit 50 ml 0,1 n äthanolischer Kalilauge beschickten

100 ml-Meßkolben, zerbricht es durch kräftiges Schütteln des Kolbens und füllt diesen mit äthanolischer Kalilauge zur Marke auf. Von dieser Lösung verdünnt man sechs oder mehr gleiche Anteile mit 0,05 n KOH in 50%igem Äthanol zu Gehalten von 1 bis 6 μg CS_2/ml, ermittelt durch Extinktionsmessung bei 301 mμ die Molarextinktion ε und erhält aus der vorhin gemessenen Extinktion E und der mittleren Molarextinktion $\bar{\varepsilon}$ den CS_2-Gehalt der Probe: $76 \cdot 10^5 \cdot E/\bar{\varepsilon} = \mu g\ CS_2$.

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1957**, 661—667. N. V. Onderzoekingsinstituut „Research" (AKU and affiliated companies), Arnhem (Holland). H. Hartkamp

Für die turbidimetrische Bestimmung kleiner Mengen von Xanthogenat und Schwefelkohlenstoff hat D. N. Finkelštein[1] geeignete Bedingungen ermittelt. Stabile Xanthogenatlösungen (C_2H_5OCSSK und C_4H_9OCSSK), die zur Herstellung von Vergleichssuspensionen dienen sollen, werden am besten unmittelbar in der endgültigen Verdünnung hergestellt und nicht durch Verdünnung einer zunächst konzentrierteren Lösung. Im letzten Fall ist die erhaltene Lösung nämlich weniger beständig. Man soll auch eine zu hohe örtliche Konzentration beim Auflösen vermeiden. Für die Beständigkeit erweist sich am günstigsten ein p_H-Wert von etwa 13. Eine Lösung von 0,21 mg/ml C_2H_5OCSSK in 0,1 n Kalilauge hat nach 30 Tagen noch 96% ihrer ursprünglichen Wirksamkeit, eine entsprechende Lösung von Butylxanthogenat 98%. — *Bestimmung von Xanthogenat.* Die turbidimetrische Bestimmung kann in Form des Kupfer(I)- und des Quecksilber(II)-xanthogenates erfolgen, die sich beide durch sehr geringe Löslichkeit auszeichnen. Mit *Kupfer(II)-salz* reagiert Xanthogenat nach der Gleichung: $2Cu^{2+} + 4\ SCSOR \rightarrow Cu_2(SCSOR)_2 + (SCSOR)_2$ unter Bildung der gelben Trübung von Kupfer(I)-xanthogenat, wenn wenigstens 0,02 mg Äthyl- oder Butylxanthogenat in 11 ml zugegen sind. Der p_H-Wert der Lösung soll in dem Bereich 3,5 bis 4,5 liegen. Dies wird durch Zugabe von 0,5 ml 0,1 n Essigsäure nach Neutralisation gegen Phenolphthalein erreicht. Nach 15—20 min erreicht die Lichtabsorption ein Maximum und verändert sich während einer Stunde nicht. Sulfat (bis 0,5 g) stört nicht, dagegen vermindern Chloride die Lichtabsorption, was besonders bei Bestimmung kleinerer Mengen Xanthogenat von Bedeutung ist. Die *Quecksilberxanthogenate* bilden weiße, sehr beständige Suspensionen. Am günstigsten ist ein p_H-Bereich von 3,2—4,0, bei dem das Maximum der Lichtabsorption in 30—45 min erreicht wird und dann 1—3 Stunden erhalten bleibt. Salze schwächen die Lichtabsorption der Hg-Xanthogenate weniger als die der Cu-Salze. — *Bestimmung von Schwefelkohlenstoff.* Man wägt die Probe in eine Ampulle ein, die dann in einem kurzen Gefäß (Abb. im Original), durch einen Glasstab zertrümmert wird. Ein durchgeleiteter Luftstrom führt die Dämpfe in eine mit 3%iger alkoholischer Kalilauge beschickte Waschflasche, wo der Schwefelkohlenstoff unter Bildung von Xanthogenaten aufgefangen wird, die dann nephelometrisch bestimmt werden. Die Genauigkeit der Bestimmung beträgt etwa 5% und besser.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 754—758 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Inst. f. Arbeitshyg. u. Berufskrankh., Sverdlovsk. E. Förster

Die Analyse eines Gemisches der drei Äthanolamine *[Monoäthanolamin (I), Diäthanolamin (II), Triäthanolamin (III)]* gelingt nach J. Kubias[1], indem man in einem Teil der Probe die Gesamtalkalität mit alkoholischer 0,1 n Salzsäure titriert, in einem 2. Teil der Probe I und II durch Acetylieren in neutrale Verbindungen überführt und III allein mit Säure titriert[2] und schließlich in einem dritten Teil der Probe die zur Oxydation von I und II notwendige Metaperjodatmenge bestimmt (III wird unter den Versuchsbedingungen von Perjodat nicht angegriffen)[3]. Die Oxydation von I und II verläuft nach den Gleichungen $H_2NC_2H_4OH + NaJO_4 = NH_3 + 2CH_2O + NaJO_3$; $HN(C_2H_4OH)_2 + 2NaJO_4 = NH_3 + 4CH_2O + 2NaJO_3$. Für 1 Mol I wird also 1 $NaJO_4$, für 1 Mol II werden 2 $NaJO_4$ verbraucht. Wenn die Probe

noch Ammoniak enthält, ist noch eine 4. unabhängige Bestimmung notwendig. Dazu isoliert man I durch azeotropische Destillation mit Chlorbenzol und bestimmt es auf Grund der Perjodatreaktion (II und III bleiben im Destillationsrückstand). Durch statistische Auswertung der Ergebnisse wurden folgende durchschnittliche Abweichungen gefunden: für I $\pm$ 1,85 und 1,5 %, für II $\pm$ 2,50 und 1,0 % sowie für III $\pm$ 0,32 und 0,2 %, je nachdem, ob NH_3 ab- oder anwesend war. Die Analyse beansprucht 1—2 Std. — *Arbeitsweise.* Von den erforderlichen Maßlösungen wird der Faktor (f_1) der 0,1 n alkoholischen Salzsäure auf übliche Art gestellt. Die Einstellung der 0,02 n Jodlösung (Faktor f_2) erfolgt mit reiner Monoäthanolaminlösung gegen die Salzsäure, indem man die unten beschriebenen Titrationen A, C und D durchführt. Es ist $f_2 = f_1 a/(c-d)$. — *Bestimmung.* Eine Einwaage *(G)*, deren Menge sich nach der zu erwartenden Gesamtmenge von I und II richtet [0—20 (%) 0,6—1,2 (g); 20—40:0,4—0,6; 40—60:0,32—0,42; 60—80:0,25—0,32; 80—100: 0,23—0,25], löst man im 100 ml-Meßkolben in absolutem Alkohol. — A. Zur Bestimmung der Gesamtalkalität versetzt man 20 ml dieser Lösung mit 3—4 Tr. Thymolblaulösung und titriert mit 0,1 n alkoholischer Salzsäure bis zum Umschlag von Gelb nach Rot (Verbrauch a Milliliter). — B. Zur III-Bestimmung versetzt man weitere 20 ml Lösung mit 1,0 ml Essigsäureanhydrid, läßt nach dem Umrühren 10 min stehen, fügt 3—4 Tr. Thymolblaulösung zu und titriert unter Rühren mit 0,1 n alkoholischer Salzsäure bis zum Umschlag von Gelb nach Rot. Etwa anwesende große Mengen Ammoniak sind vor dem Acetylieren möglichst vollständig durch Erwärmen auf dem Wasserbad zu entfernen (Verbrauch b Milliliter). — C. Oxydimetrische Bestimmung. Zu in einem 100 ml-Kolben befindlichen 20 ml Wasser fügt man 20 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und pipettiert 2,00 ml Stammlösung sowie 10,00 ml 0,0125 m Kaliummetaperjodatlösung zu (1,438 g KJO_4 in 500 ml). Nach dem Umrühren läßt man 15 min lang stehen und versetzt mit genau 10,00 ml 0,03 n Natriumarsenit- und 2,0 ml 10 %iger Kaliumjodidlösung. Nach weiteren 15 min gibt man einige Tropfen Stärkelösung hinzu und titriert unter Rühren mit 0,02 n Jodlösung bis zur schwach blauen Färbung (Verbrauch c Milliliter). — D. Genauso führt man eine Blindtitration aus. Die zu titrierende Flüssigkeit enthält statt 2,00 ml Stammlösung die gleiche Menge absolutes Äthanol (Verbrauch d Milliliter). — Man berechnet die Mengen von I, II und III in Gew.-% aus folgenden Ausdrücken: $I = [2f_1(a-b) - f_2(c-d)] \cdot 3{,}054/G$; $II = [f_2(c-d) - f_1(a-b)] \cdot 5{,}257/G$; $III = 7{,}460 \cdot f_1 b/G$. — *In Gegenwart von Ammoniak* gibt man in einen Destillationskolben 130 ml Chlorbenzol und 10,00 ml Stammlösung und destilliert in einen 100 ml-Meßkolben mit eine Geschwindigkeit von 2 Tr./sec bis zur Marke und füllt nach dem Abkühlen mit Chlorbenzol bis zur Marke nach. In einem 100 ml-Meßkolben mischt man 20 ml Wasser mit 20 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, 20 ml Destillat und 10,00 ml 0,0125 m Kaliummetaperjodatlösung. Die Mischung läßt man nach 5 min langem Rühren 10 min stehen, fügt dann 10,00 ml 0,03 n Natriumarsenit- und 2,0 ml 10 %ige Kaliumjodidlösung zu, rührt wieder 5 min lang, läßt 10 min stehen, versetzt mit Stärkelösung und titriert unter Rühren mit 0,02 n Jodlösung (Verbrauch e Milliliter). Ein Blindversuch ist nur bei Verwendung ungenügend gereinigten Chlorbenzols erforderlich, sonst benutzt man den oben erhaltenen Wert d. Man berechnet, in Gew.-%, wie folgt:

$$I = [f_2(c-d)] \cdot 3{,}054/G;$$
$$II = [f_2(c-e)] \cdot 2{,}629/G;$$
$$NH_3 = [f_1(a-b) - f_2(\%_2 d + \%_2)] \cdot 0{,}8515/G.$$

[1] Chem. Listy **51**, 2275—2279 (1957) [Tschechisch)]. Forsch.-Inst. org. Synthesen, Pardubice-Rybitví (ČSR). — [2] Jefferson Chemical Comp., A. Technical Bulletin on Monoethanolamine, Diethanolamine, Triethanolamine. — [3] Courtois, J., u. M. Grandchamp: Ann. pharm. franç. **6**, 453 (1948). H. Freytag

Eine neue Reaktion zur Unterscheidung der cis- und trans-Isomeren von Nitrophenylhydrazonen einiger α-Ketosäuren besteht nach H. Katsuki, K. Sumizu, T. Moriwaki, S. Tanaka und I. Hayashi[1] in einer Chelatbindung mit Nickelionen. — *Arbeitsweise.* Man gibt 0,1 g Zinkpulver zu einer Mischung von 10 μMolen $NiCl_2$ und 30 μMolen des cis-Hydrazons in 5 ml 70%igem Äthanol. Schüttelt man nun einige Minuten, so färbt sich die Lösung rot. Die trans-Verbindungen geben keine Farbreaktion. Für einige α-Ketosäurehydrazone werden Absorptionsmaxima angegeben: Brenztraubensäure-2,4-dinitrophenylhydrazon: cis 370—380 mμ; trans 356—358 mμ; Benzoylameisensäure-o-nitrophenylhydrazon: cis 425—447 mμ trans 365—412 mμ. Auch die 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Benzoylameisensäure und von α-Keto-β,β-dimethyl-γ-buttersäurelacton lassen sich auf diese Weise prüfen. Für die Farbreaktion der cis-Verbindungen ist eine o-Nitrogruppe im Phenylhydrazon notwendig. m-Nitrophenylhydrazone reagieren nicht. Hydrazone von β- und γ-Ketosäuren lassen sich mit dieser Reaktion nicht differenzieren. Von den drei Nitrophenolen gibt nur o-Nitrophenol eine Färbung.

[1] Nature (London) **181**, 639 (1958). Univ. Kyoto und Women's Univ. Osaka (Japan). H. Pelzer

Über eine Unterscheidung zwischen α-Aminosäuren und Aminen auf Papierchromatogrammen berichten G. D. Kalyankar und E. E. Snell[1]. Die Differenzierung beruht darauf, daß die α-Aminosäuren mit Pyridoxal zu Pyridoxamin umgesetzt werden, welches mit Ninhydrin eine tieforange Färbung gibt. β-Alanin sowie die meisten anderen Amine geben diese Reaktion nicht und werden daher von Ninhydrin purpur gefärbt. — *Arbeitsweise.* Das zu analysierende Gemisch wird auf zwei Parallelchromatogrammen mit n-Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5) aufgetrennt. Nach dem Trocknen an der Luft wird das Chromatogramm mit Pyridoxallösung (250 mg Pyridoxalhydrochlorid in 100 ml 95%igem Äthanol, mit Alkali auf p_H 5,5 gebracht) besprüht. Nach dem Trocknen an der Luft erscheinen die Verbindungen mit primärer Aminogruppe zufolge der Bildung einer Schiffschen Base gelb, während sek. und tert. Amine nicht ansprechen. Zur Transaminierung erhitzt man 10 min auf 90° C, besprüht beide Chromatogramme mit einer 0,25%igen Ninhydrinlösung in Aceton und erhitzt 5 min auf 90° C oder beläßt bei Raumtemperatur. Auf dem ersten Chromatogramm sind alle ninhydrinpositiven Substanzen sichtbar, auf dem zweiten erscheinen die α-Aminosäuren als orange Flecken.

[1] Nature (London) **180**, 1069—1070 (1957). Univ., Berkeley, Calif. (USA). G. Kainz

Papierchromatographische Zuckeranalyse. Nach R. H. Quick[1] gelingt die Trennung von 7 verschiedenen Zuckern (D-Galaktose, D-Glucose, D-Mannose, L-Arabinose, D-Xylose, D-Ribose, L-Rhamnose) bei der Papierchromatographie besser, wenn man mit verschiedenen Laufmitteln und Zwischentrocknung arbeitet. Es werden bei absteigender Chromatographie bei Raumtemperatur benutzt: 1. Äthylacetat-Essigsäure-Wasser (9:2:2); 2. 1-Butanol-Pyridin-Wasser (10:3:3). Man chromatographiert 12 Std mit Lösung 1, nach Trocknung 24 Std nochmals mit Lösung 1, nach Trocknen 12 Std mit Lösung 2, und nach einer weiteren Zwischentrocknung nochmals 24 Std mit Lösung 2, dann wird das Chromatogramm endgültig getrocknet. Nach dem Ausschneiden und Herauslösen werden die Zucker durch Perjodatoxydation quantitativ bestimmt. Die Genauigkeit der Bestimmung ist jedoch nicht so groß wie bei reinen Zuckern, sie liegt bei ± 10%. Ganz unbefriedigend ist dabei die Bestimmung von 1 Teil D-Galaktose in 100 Teilen D-Glucose. — *Durchführung der Perjodatoxydation.* Man versetzt 1 ml Zuckerlösung mit 2 ml CO_2-freiem Wasser und 1 ml 0,25 m Natriummetaperjodatlösung und erhitzt das

geschlossene Gefäß 20 min im siedenden Wasserbad. Nach dem Abkühlen gibt man 0,2 ml Äthylenglykol hinzu und titriert nach 5 min mit 0,004 n Natronlauge gegen Methylrot.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1439—1441 (1957). Inst. Paper Chem., Appleton, Wis. (USA). B. Rossmann

Bestimmung reduzierender Zucker. Die Schwankungen in den Ergebnissen der Bestimmung reduzierender Zucker mit Fehlingscher Lösung werden nach Untersuchungen von A. V. Ablov und D. G. Batyr[1] durch Ersatz der Weinsäure durch *Trioxyglutarsäure* beseitigt, mit deren Cu-Verbindung die reduzierenden Zucker zuverlässige, der Zuckermenge streng proportionale Abscheidungen von Cu_2O geben. Das Verfahren ermöglicht die *Bestimmung der Glucose, Fructose und Maltose* mit großer Genauigkeit. Aus den Lösungen des trioxyglutarsauren Kupfers in Laugen scheidet sich selbst bei halbjährigem Stehen kein Cu_2O ab, während aus Fehlingscher Lösung die Abscheidung von Cu_2O schon am dritten Tage beginnt. Die Menge x mg der Zucker wird nach der Formel $x = f \cdot t$ errechnet, in der t der Betrag der mg Cu im abgeschiedenen Cu_2O und f der Umrechnungsfaktor ist, der für Glucose den Wert 0,6068, für Fructose 0,6027 und für Maltose 0,9383 hat. — *Herstellung von Trioxyglutarsäure.* Eine nach 24stündigem Stehen vom gebildeten Niederschlag abfiltrierte 40%ige Lösung von Xylotrioxyglutarsäure wird auf dem Wasserbade bis zu der dem Brechungskoeffizienten $n_{20°} = 1{,}4064$ entsprechenden Konsistenz eingedampft, worauf nach Filtration und Zugabe von 5 ml konzentrierter Salzsäure auf einen Brechungsindex von $n_{20°} = 1{,}4399$ eingeengt wird. Die nach 12stündigem Stehen in Form von Parallelogrammen in einer Ausbeute von 80% abgeschiedenen Kristalle haben nach Umkristallisieren aus Aceton den Schmelzpunkt 150° C. — *Reagenslösung* Nr. 1. Lösung 40 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ mit Wasser zu 1 l aufgefüllt. Nr. 2. Lösung von 128 g Trioxyglutarsäure und 207 g NaOH mit Wasser zu 1 l aufgefüllt. — *Bestimmung.* Man versetzt n ml der zu untersuchenden Zuckerlösung mit (20—n) ml Wasser, fügt ein Gemisch von je 20 ml der Reagenslösungen Nr. 1 und Nr. 2 zu, erhitzt und hält 3 min im Sieden. Der Niederschlag wird in einem Glasfiltertiegel Nr. 4 gesammelt, mit Wasser gewaschen, in Eisenalaunlösung (86 g $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ + 108 ml konz. Schwefelsäure im Liter) gelöst und die Lösung mit 0,1 n Permanganatlösung titriert.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 749—753 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Staatsuniv. Kischinev. E. Förster

Glucoseoxydase in der Analyse. A. Sols und G. de La Fuente[1] weisen darauf hin, daß die Enzyme als wirksame und besonders spezifische Reagentien aufzufassen sind und weit mehr als bisher in der Analytik verwandt werden sollten. Als besonders geeignetes Enzym wird die Glucoseoxydase beschrieben, die sich als sehr nützlich zum Nachweis und zur Bestimmung von Glucose erwiesen hat. Die Glucoseoxydase aus Penicillium notatum und Aspergillus niger ist leicht im Handel erhältlich und hochspezifisch für die *Glucose.* Setzt man den Oxydationskoeffizient der Glucose gleich 1, so werden lediglich noch die 2-Desoxyglucose (Koeff. 0,07) und Glucoson (Koeff. 0,03) merklich, einige andere sehr wenig angegriffen. (Es wurden nahezu 100 Zucker und Zuckerderivate untersucht.) Die Glucoseoxydase benötigt keinen Cofaktor; es wurde bis jetzt kein wirksamer Inhibitor gefunden. Die durch die Glucoseoxydase katalysierte Reaktion beruht auf der Oxydation von 1 Mol Glucose mit Sauerstoff zu Gluconsäure und 1 Mol Wasserstoffperoxyd, das nun colorimetrisch oder volumetrisch durch Zerfall in Wasser und Sauerstoff nachgewiesen werden kann. — Verff. gehen auf die photocolorimetrischen Bestimmungen mit dem im Handel befindlichen „Glucostat" (Worthington, Freehold, N. J. [USA]) und dem

Indicatorpapier „Tes-tape", (Eli Lilly & Co, Indianapolis, Ind.) ein. — Zur Verbesserung der Messung mit Glucostat schlagen sie vor, um eine Trübung bei der Herstellung des Reagenses zu vermeiden, 0,2% Triton X 100 (Rohm & Haas, Philadelphia, Pa.) zuzusetzen. Zur Messung wird empfohlen, die vollständige Reaktion abzuwarten oder falls dies nicht möglich ist, nach genau bestimmter Zeit $^1/_{20}$ des Volumens 40%ige Kalilauge zuzusetzen, zu mischen und dann nach Ermessen die Messung durchzuführen. Die Lösung bleibt so über Stunden unverändert. Der p_H-Wert muß 5,5 oder weniger betragen. Das Indicatorpapier ist ein Papierstreifen, der getränkt ist mit Glucoseoxydase, Katalase und Peroxydase, außerdem mit o-Folidin und einem gelben Farbstoff, um die Eigenfarbe des zu prüfenden Urins zu maskieren. Das o-Folidin wird unter der Oxydationswirkung des Systems H_2O_2-Peroxydase intensiv blau gefärbt. Im Verein mit dem gelben Grundton entstehen verschiedene grüne Zwischenfarben. Die Katalase reguliert die Geschwindigkeit der Oxydation. Die Papierindicatormethode ist für halbquantitative Messungen gut brauchbar. Es ist nur auf eine geeignete Verdünnung zu achten. Die Glucosekonzentration soll nicht größer als 0,005 m sein. Die Geschwindigkeit der Farberscheinung ist dann der Konzentration der Glucose proportional. Kurvenmaterial gibt Aufschluß über die kinetischen Verhältnisse.

[1] Laboratorio (Granada) **25**, 15—30 (1958). Centro de Investigaciones Biológicas, C.S.I.C., Madrid (Spanien). IRMGARD PFITZER

Die Hydrolyse von Cellulose in starker Schwefelsäure bei Zimmertemperatur verfolgt G. NOTO LA DIEGA[1] auf papierchromatographischem Wege. Schwierigkeiten bereitet hierbei die starke Verdünnung der Kohlenhydrate, da mit Schwefelsäurekonzentrationen von 51, 65 und 72% sowie mit einem hohen Säure-Cellulose-Verhältnis (87 : 1) gearbeitet wird und beim späteren Neutralisieren der Säure eine weitere Verdünnung auf etwa das 5fache eintritt. Konzentrieren durch Eindampfen bei höherer Temperatur ist unzweckmäßig, weil dabei Zwischenprodukte der Hydrolyse angegriffen werden können. Zur quantitativen Auswertung der Chromatogramme eignet sich die Planimetrie der Flecken. Damit läßt sich die Glucose auf 7—10%, die Cellobiose, deren Konzentration auch beim Maximum hinter derjenigen der Glucose stark zurückbleibt, bei diesem auf 10—15% bestimmen, sonst aber nur halbquantitativ abschätzen, während Cellotriose und Cellotetraose sowie Gentiobiose (Reversionsprodukt der Glucose) nur eben nachweisbar sind und Spaltstücke mit Polymerisationsgraden über 4, welche ihre höchste Konzentration in den Anfangsstadien der Hydrolyse erreichen, beim Verdünnen und Neutralisieren der Ansätze unlöslich werden und auf dem Chromatogramm überhaupt nicht zu finden sind. — *Arbeitsweise.* Zu 680 ml Schwefelsäure (D 1,56) von 20° C gibt man 8,10 g (Trockengewicht) Baumwolle, rührt, bis eine opalescierende Lösung entstanden ist (etwa 40 min), verdünnt mit Eis, bis eine Dichte von 1,42 erreicht ist (20° C; 51% H_2SO_4), und fügt 51%ige Schwefelsäure bis zum Gesamtvolumen von 1000 ml hinzu. (Entsprechend verfährt man zur Hydrolyse mit 65 und 72%iger Schwefelsäure, trägt aber zur Wahrung des Säure-Cellulose-Verhältnisses von 87 : 1 11,65 bzw. 13,60 g Baumwolle ein.) Nach den gewünschten Reaktionszeiten (bis zu 20 Tagen bei 18° C) entnimmt man jeweils 20 ml, verdünnt mit Eis auf 100 ml, neutralisiert einen Teil der Lösung mit Bariumcarbonat gegen Kongorot, filtriert und fällt in Lösung gegangene Ba-Ionen durch Versetzen mit etwas saurem Hydrolysat. (Neutralisiert man mit trockenem $BaCO_3$, so steigt die Kohlenhydratkonzentration durch Entfernung der Schwefelsäure um 4,4%.) Die chromatographische Trennung (Papier Whatman Nr. 1) wird entweder absteigend mit n-Butanol-Pyridin-Wasser (6 : 4 : 3) oder aufsteigend-absteigend mit Phenol-Wasser (4 : 10) durchgeführt. Wenn die Chromatogramme quantitativ ausgewertet werden sollen, verdient Phenol-Wasser den Vorzug, weil damit die R_f-Werte geringer sind und die Flecke

keine Schwanzbildung zeigen. Umgekehrt eignet sich n-Butanol-Pyridin-Wasser besser zur Trennung und zum Nachweis höherpolymerer (n = 2—4) Produkte aus den Anfangsstadien der Hydrolyse. Um bei der großen Verdünnung genügend Substanz auf die Startlinie zu bekommen, muß man nach kurzer Hydrolyse 100 µl und später 50 µl neutralisiertes Hydrolysat in Portionen von 2 µl mit jeweiliger Zwischentrocknung in einem warmen Luftstrom auftragen. Vor dem Eintauchen in das Lösungsmittel beläßt man das Papier 2 Std in der mit den Dämpfen gesättigten Kammer. Nach Beendigung der Trennung trocknet man die Papiere an der Luft, bei Phenol-Wasser nachträglich auch noch in einem Trockenschrank bei 110° C. Zur Sichtbarmachung der Kohlenhydrate eignet sich am besten Benzidiniumacetat (0,5 g Benzidin in 80 ml absol. Äthanol gelöst und mit Eisessig auf 100 ml verdünnt), nach dessen Aufsprühen und Trocknen (15 min bei 105° C) die Zucker als braune Flecken erscheinen. Zur Ausmessung wird ein Polarplanimeter nach R. Fisher, D. Parson u. G. Morrison[2] benutzt. Mit der Analysenprobe muß man auf demselben Papierstreifen zur Aufstellung von Eichgeraden Standardmischungen der in Betracht kommenden Mono-, Di- und Oligosaccharide in abgestuften Mengen mitlaufen lassen. Hierbei müssen Analysen- und Standardlösung genau denselben p_H-Wert besitzen, wogegen geringe Ba-Reste in der Analysenprobe nicht stören.

[1] Ann. Chimica **46**, 1208—1216 (1956). Univ. Palermo (Sizilien). — [2] Nature (London) **161**, 764 (1948); vgl. diese Z. **135**, 62 (1952). F. Neumann

Um Sulfonsäuren und Schwefelsäure nebeneinander zu bestimmen, fällt man nach V. Cerchez und O. Popescu[1] die Säuren gemeinsam als Bariumsalze aus, wägt den getrockneten Rückstand, glüht ihn dann, wobei die Sulfonate in Sulfat übergehen und wägt wieder. Aus der Gewichtsdifferenz kann, sofern das Molekulargewicht des Sulfonsäuregemisches bekannt ist, der Gehalt an Sulfat berechnet werden. Das Verfahren wurde für die Analyse von Teersäuren angewandt.

[1] Studii Cercetări Chim. (Cluj) **7**, 155—165 (1956) [Rumänisch]. (Nach franz. Zus.fass. ref.) G. Denk

Zur papierchromatographischen Trennung einwertiger Phenole empfiehlt J. Franc[1] die Anwendung von mit 20%iger alkoholischer Lösung von *Formamid* oder *Acetamid* imprägniertem Whatman-Papier Nr. 4. Mit diesen fixen Phasen bilden die Phenole stabile zwischenmolekulare Wasserstoffbrücken. Diese Verbindungen sind tausendmal weniger flüchtig als Wasser. Die Verflüchtigung der Phenole vom Chromatogramm wird also weitgehend verhindert. — Man trägt auf die Startlinie des imprägnierten Papiers 5 µl einer Lösung von 0,5 g der Phenolprobe in 15 ml Pyridin auf und entwickelt absteigend bei etwa 20 ± 2° C mit Cyclohexan-Pyridingemischen 25 : 0, 25 : 1, 25 : 2, 25 : 4, 25 : 5 oder 25 : 10, die alle brauchbare Trennungen von Phenol und seinen Homologen ermöglichen. Die Kammeratmosphäre sättigt man mit Dämpfen der mobilen und fixen Phase. Die Laufstrecke des Lösungsmittelgemisches beträgt in 2 Std 25 cm. Die entwickelten Tüpfel zeigen runde Form, man macht sie mit Pauly-Reagens sichtbar. In einer Tabelle sind in der Originalarbeit die R_f-Werte der untersuchten Phenole, nämlich *Phenol, o-, m-, p-Kresol, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 3,4-, 3,5-Dimethylphenol, o-, m-, p-Äthylphenol, 3,5-Methyläthylphenol* für 3 fixe Phasen (Formamid, Acetamid, Dimethylformamid) und für die verschiedenen Lösungsmittelgemische zusammengestellt. Die Ergebnisse werden vom theoretischen Standpunkt aus eingehend diskutiert. Dimethylformamid ist wegen seiner verhältnismäßig großen Flüchtigkeit als Imprägnierungsmittel wenig geeignet. Die Trennungen mit dieser fixen Phase sind auch viel schlechter als mit Formamid oder Acetamid.

[1] Chem. Listy **52**, 55—59 (1958) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. organ. Synthesen, Pardubice-Rybitví (ČSR). H. Freytag

Zur Bestimmung von Mikrogrammengen Anilin, Methylanilin und Dimethylanilin nebeneinander empfehlen A. A. Beljakov und N. V. Gorbyleva[1] ein photocolorimetrisches Verfahren, bei dem Anilin diazotiert und nach dem Kuppeln mit α-Naphthol bei p_H 11,5 gemessen, Dimethylanilin mit m-Nitrophenyldiazonium gekuppelt und bei p_H 4,7—5,1 gemessen und die Summe von Methylanilin und Anilin auf Grund der Farbreaktion mit Chloramin B und Phenol bestimmt wird. Methylanilin ergibt sich dann aus der Differenz. Das Verfahren ist zur Untersuchung technischer Produkte von Anilin, Methylanilin oder Dimethylanilin geeignet, außerdem kann es zur Bestimmung der Dämpfe der aromatischen Amine in der Luft dienen. — *Ausführung. Bestimmung von Anilin.* Man versetzt 2 ml der zu untersuchenden Probe mit 0,1 ml 40%iger Essigsäure und 0,3 ml Reagens, das 20 mg Natriumnitrit und 35 mg Natriumbromid enthält, und läßt 5 min stehen. Dann fügt man 0,2 ml 10%iges Ammoniak, eine Lösung von 0,25 mg α-Naphthol in 0,5 ml Äthanol und 0,1 ml 40%ige Natronlauge zu, mischt und ergänzt mit 96%igem Äthanol auf 5 ml. Nach 10 min photometriert man in 1 cm-Küvette bei 533 mμ. 1—40 μg Anilin in 2 ml der ursprünglichen Lösung können mit 6% Fehler bestimmt werden. Das Beersche Gesetz ist erfüllt. — *Bestimmung von Dimethylanilin.* 4 ml der Probe werden mit 0,1 ml 15%iger Essigsäure angesäuert und zur Beseitigung der Störung durch die anderen Amine mit 25 mg (2 Tropfen) Essigsäureanhydrid versetzt. Dann fügt man 1 ml 10%ige Natriumacetatlösung und 0,35 ml Reagens zu, hergestellt aus 25 mg m-Nitroanilin in 20 ml 20%iger Essigsäure und 4 ml 1%iger Natriumnitritlösung. Man bringt mit 96%igem Äthanol auf 10 ml und mißt nach 10 min in 2 cm-Küvette bei 465 mμ. Im Konzentrationsbereich 1—40 μg in 10 ml Lösung besteht lineare Abhängigkeit zwischen der Farbintensität und der Konzentration. Man kann 1 μg Dimethylanilin in 4 ml Probe mit einem mittleren Fehler von 6% bestimmen. — *Bestimmung von Methylanilin (+ Anilin).* Man fügt zu 2 ml Probe 0,9 ml 15%iges Äthanol und oxydiert 5 min mit 0,5 ml 6%iger Chloramin B-Lösung. Dann versetzt man mit 0,1 ml 0,1 n $Na_2S_2O_3$-Lösung, 0,1 ml 6%iger Natronlauge und einer Lösung von 24 mg Phenol in 0,4 ml Wasser. Nach 20 min photometriert man in 1 cm-Küvette bei 619 mμ. 1 μg Methylanilin (oder Anilin) kann in 2 ml Lösung mit einem mittleren Fehler von 13% erfaßt werden. Dimethylanilin erhöht bei Bestimmung kleiner Mengen (4—6 μg) Methylanilin die Fehler auf 30% und darüber. — *Bestimmung von Dämpfen aromatischer Amine in der Luft.* Man leitet die Luft mit der Geschwindigkeit 1 l/min durch 3 mit 5 ml 1%igem Äthanol beschickte Absorptionsgefäße. Die Lösung im letzten Gefäß ist mit 0,3 ml 40%iger Essigsäure angesäuert. Anilin und Methylanilin werden in den beiden ersten Gefäßen absorbiert und darin bestimmt. Dimethylanilin ist auf alle 3 Gefäße verteilt; die Bestimmung erfolgt in aliquoten Teilen der Lösungen. Die Analyse dauert 1 Std.

[1] Ž. anal. Chim. **12**, 545—549 (1957) [Russisch]. Gorky-Inst. f. Arbeitshyg. u. Berufskrankh. E. Förster

Analyse des Phthalsäureanhydrids. Je. Je. Školman und N. M. Vorošilova[1] überprüften die Angabe von V. O. Lukaševič[2], daß Phthalsäureanhydrid durch Methanol nur zu 99,4% und nicht vollständig methyliert werde. Der von den Verff. verwendete Methylalkohol wurde besonders sorgfältig mit Magnesiummethylat entwässert und danach destilliert. (Bei einem höheren Wassergehalt wurde der Alkohol zunächst mit metallischem Natrium entwässert, dann destilliert, mit Mg-Methylat entwässert und wiederum destilliert.) Beim Methylieren des Phthalsäureanhydrids mit dem auf diese Weise entwässerten Methylalkohol stellte es sich heraus, daß das Phthalsäureanhydrid im Gegensatz zu der Annahme von Lukaševič vollständig (100%) methyliert wird, wenn die Dauer des Methylierens 30—60 min

beträgt. Die Berechnung des Gehaltes an Phthalsäureanhydrid geschieht nach der verbesserten Formel $x = (v/g - v_1/g_1)\,0{,}07406 \cdot 100$. Darin bedeuten v und v_1 die Milliliter 0,5 n Natronlauge, die zur Titration des Phthalsäureanhydrids vor und nach der Methylierung verbraucht worden sind (Phenolphthalein als Indicator); g und g_1 sind die Einwaagen (in Gramm) für die erste bzw. zweite Titration.

[1] Ž. prikl. Chim. **30**, 1716—1719 (1957) [Russisch]. Zentrallabor der Farblackfabrik, Čeljabinsk. — [2] Ž. prikl. Chim. **11/12**, 1086 (1931); vgl. auch diese Z. **95**, 89 (1933). A. v. Wilpert

Die Bestimmung von Cumarin nach der Methode von L. G. Radcliff und E. H. Sharples[1] durch Einwirkung von 0,5 n alkoholischer Natronlauge und Titration des Alkaliüberschusses wird von N. A. Valjaško und E. G. Berdičevskij[2] überprüft. Sie finden, daß die durch die Hydrolyse des alkalischen Salzes der Cumarinsäure bedingten Fehler vermieden werden, wenn die Cumarinsäure (o-Oxyzimtsäure) zuvor durch Zufügen von Quecksilberoxyd nach R. N. Sen und D. Chakravarti[3] in die Cumarsäure (cis—trans) umgelagert wird. — *Arbeitsweise.* 0,1—0,3 g Cumarin werden in einem 100 ml-Meßkolben in 10 ml Alkohol aufgelöst. Man schüttelt kräftig mit 0,1 g pulverförmigem, gelbem Quecksilberoxyd durch und fügt 10 ml 0,5 n alkoholische Natronlauge hinzu. Unter gelegentlichem Umschütteln wird 15 min stehen gelassen. Dann verdünnt man zur Marke und filtriert. Die ersten Anteile werden verworfen. 25 ml werden mit 0,1 n Salzsäure titriert. Die Endfarbe bleibt 2 Std bestehen.

[1] Perfum. essent. Oil Rec. **16**, 199 (1925). — [2] Ž. obšč. Chim. **27**, 2302—2303 (1957) [Russisch]. Pharmaz. Inst. Charkov (UdSSR). — [3] J. Indian chem. Soc. **7**, 247 (1930). Margot Zimmermann

Ein neues Farbreagens für den Nachweis von Flavononen und ihren Glykosiden auf Papierchromatogrammen oder in Lösung fanden E. Eigen, M. Blitz und E. Gunsberg[1]. Als Sprühreagens verwendet man eine frisch bereitete Lösung von 0,1 g Natriumborhydrid in möglichst wenig Wasser, die man mit Isopropanol auf 10 ml auffüllt. Bringt man die mit dieser Lösung besprühten Chromatogramme für 15—30 sec in die Dämpfe konzentrierter Salzsäure, so erscheinen *Hesperidin, Hesperetin, Naringin, Naringenin, Homoeriodictyol* und *Neohesperidin* in Form purpurner oder magentaroter Flecken, wobei noch 2 μg der genannten Substanzen erkennbar sind. Für die Farbreaktion in Lösung löst man 1—2 mg der rohen oder 0,1 mg der reinen Flavonon-Fraktion in wenig Methanol, gibt etwa 10 mg festes Natriumborhydrid zu und versetzt die Lösung tropfenweise mit 1%iger Salzsäure, solange sich Wasserstoff entwickelt. Beim weiteren Zusatz von konz. Salzsäure tritt bei Anwesenheit eines der angeführten Stoffe Violett- bis Magentarotfärbung auf.

[1] Arch. Biochem. Biophysics **68**, 501—502 (1957). Vitamin Co. Yonkers, N.Y. (USA). K. Söllner

Kryoskopische Bestimmung von in Schwefelsäure unlöslichen Beimischungen in Arenen (aromatischen Kohlenwasserstoffen). Die zu untersuchenden aromatischen Kohlenwasserstoffe werden nach dem von M. D. Tiličeev und E. I. Goisa[1] entwickelten Verfahren in Cyclohexan gelöst, das bei Untersuchung von Benzol durch Dicyclohexyl ersetzt wird. Dann wird mit konz. Schwefelsäure geschüttelt. Von den Lösungen der nicht sulfurierbaren Beimengungen bestimmt man die Kristallisationstemperatur. Die Berechnung der Menge x (in Mol-%) der Beimengungen erfolgt bei Verwendung von Cyclohexan nach der Formel $x = 1{,}19\,aM/[b\,(242 - \Delta t)]$, in der t die Kristallisationstemperatur des Ausgangscyclohexans, a die Einwaage in g an Lösungsmittel, b die Einwaage in g der Probe, M das Molekulargewicht des Arens bedeuten. Die Methode ermöglicht die Bestimmung von

beliebigen Alkanen und Cyclanen (außer Cyclohexan) in einem Aren mit der Genauigkeit von 0,1—0,2 Mol-%. — *Ausführung.* Man mischt 10—13 ml Cyclohexan von bekannter Kristallisationstemperatur mit der gleichen Menge (in Molen) des zu untersuchenden Arens in einem Scheidetrichter und schüttelt mit der dreifachen Menge 98 $\pm$ 0,5%iger Schwefelsäure 30 min, wobei durch Verdampfung keine größeren Verluste als 0,2% entstehen. Die abgetrennte Kohlenwasserstoffschicht wird nochmals 10 min mit der gleichen Menge konz. Schwefelsäure geschüttelt. Nach Abtrennung der Säure wird die Kristallisationstemperatur des Kohlenwasserstoffs bestimmt. Die Säureextraktion wird bis zur Erreichung der endgültigen Kristallisationstemperatur fortgesetzt. Bei Arenen mit einem Molekulargewicht unter 150 kann das Verfahren weitgehend abgekürzt werden. Die kryoskopische Methode ist dann von Vorteil, wenn die volumetrische Bestimmung (z. B. bei hochmolekularen oder kristallinen Arenen) versagt.

Ž. anal. Chim. **12**, 550—555 (1957) [Russisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Wiss., Forsch.-inst. Napthaprodukte, Moskau. E. Förster

Die quantitative Bestimmung von Pyridoxalphosphat nehmen H. Wada T. Morisue, Y. Sakamoto und K. Ichihara[1] mit Hilfe von *Apotryptophanase* aus Escherichia coli vor. Bei p_H 4,7 läßt sich das Pyridoxalphosphat der Tryptophanase leicht ablösen und so das Apoferment gewinnen. Die Bildung von Indol aus Tryptophan durch Apotryptophanase hängt dann von der Menge an zugefügtem Pyridoxalphosphat ab. Zur Gewinnung des Apoenzyms wird 1 g der Zellen von E. coli (K 12), auf Peptonbouillon bei 37° C 24 Std gezogen, mit 3 g Quarzsand gemahlen. Man zieht mit dest. Wasser (50 ml) 2 Std bei 0° C aus. Der unlösliche Rückstand wird durch 30 min langes Zentrifugieren bei 12000 U/min entfernt. Die überstehende Flüssigkeit wird auf p_H 4,7 mit 1 m Essigsäure eingestellt und bei 9000 U/min 5 min lang zentrifugiert. Die Fällung, in 50 ml dest. Wasser gelöst, wird über Nacht bei 5° C gegen Wasser dialysiert. Die verbleibende Lösung dient als Apoenzymlösung. Zur Extraktion des an Eiweiß gebundenen Pyridoxalphosphats wird 1 g des Gewebes in 1 ml 10%iger Metaphosphorsäure homogenisiert. Dann werden 9 ml dest. Wasser zugefügt. Das Homogenat wird 15 min bei 80° C im Wasserbad erhitzt, dann schnell in Eiswasser abgekühlt und 15 min bei 12000 U/min zentrifugiert. Der Rückstand wird in 10 ml Wasser aufgeschlämmt und zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit sowie die Waschwässer werden vereinigt und auf 20 ml aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung dient als Testlösung. — Zur *Bestimmung von Pyridoxalphosphat in Blut* werden 2 ml Serum in einem Zentrifugenglas zu 2 ml 2%iger Metaphosphorsäure gefügt, 15 min bei 80° C gehalten und zentrifugiert. Hier dienen 2 ml der überstehenden Lösung als Testflüssigkeit. Zur eigentlichen Bestimmung werden 1,0 ml 1 m Kaliumphosphatpufferlösung (p_H 8,0), 0,5 ml 0,5 m Ammoniumsulfatlösung, 0,5 ml 0,05 m Glutathionlösung, 1 ml Apotryptophanaselösung und 1 ml der Testlösung gemischt und 20 min bei 37° C bebrütet. Dann wird 1 ml 0,01 m Tryptophanlösung zugefügt, die Mischung wird 5 min (bei Blut 30 min) bebrütet. Die Reaktion wird mit 1 ml 30%iger Trichloressigsäurelösung gestoppt. Das gebildete Indol wird nach der Methode von S. Goto[2] bestimmt. Dazu wird das Reaktionsgemisch nacheinander mit 10 und 5 ml Petroläther ausgeschüttelt. Zu der Petrolätherschicht werden 5 ml Ehrlich-Aldehydreagens (4 g p-Dimethylaminobenzaldehyd in einer Mischung von 80 ml konz. Salzsäure und 380 ml abs. Alkohol) zugefügt; die entstehende rote Farbe wird in einer 1 cm-Küvette unter Verwendung des Filters S 53 photometrisch gemessen. — Die Anwesenheit von Pyridoxal, Pyridoxin und Pyridoxamin hat keinen Einfluß auf die Indolbildung.

[1] J. Vitaminol. (Kyoto) **3**, 183—188 (1957). Univ. Osaka (Japan). — [2] Med. J. Osaka Univ. **37**, 1570 (1938). L. Acker

Über einige analytisch interessante Beobachtungen an Thiazolverbindungen berichten G. Travagli und G. Mazzoli[1]. Für den *Nachweis und die Bestimmung des Kernschwefels* in den Thiazolen wird die von Maihle[2] für die Bestimmung des Thiophens angegebene Methode (Kochen mit HCl und $SnCl_2$) verbessert, indem die Thiazole in Gegenwart einer geringen Menge Titan(III)-chloridlösung reduziert werden. Man kocht etwa 0,1 g Thiazolderivat mit 10 ml etwa 18%iger Salzsäure, 1 ml 5%iger Titan(IV)-chloridlösung und etwa 2,5 g Zinn und bestimmt den entwickelten Schwefelwasserstoff. Das Verfahren ist für alle Thiazolderivate anwendbar. — Zur *Bestimmung des Schwefels als Sulfat* erwärmt man 0,15—0,2 g Thiazolderivat mit 55—60 ml Salzsäure (D 1,09) über einer kleinen Flamme und gibt 2,5—3 g Kaliumchlorat in kleinen Portionen innerhalb 20 min hinzu. Nach weiterem Erwärmen über 20 min und Verdünnen mit Wasser erfolgt die übliche Sulfatbestimmung. — *Farbreaktionen mit Nitroprussidnatrium.* Man versetzt einige Milliliter wäßrige Thiazollösung mit einigen Millilitern wäßriger Nitroprussidlösung und macht sofort mit Alkalilauge oder auch Ammoniak alkalisch. *Chrysean* zeigt mit NH_3 intensive blauviolette Färbung, die mit Essigsäure verschwindet, mit NaOH intensive Cremefärbung; *Rhodanin* gibt mit NH_3 intensive blauviolette Färbung, die mit Essigsäure in intensives Blau übergeht, mit NaOH eine blutrote Färbung, die langsam gelblich wird. Bei Verätherung des *Sulfhydryls am* C_2 entwickelt sich langsam Rotfärbung in NH_3 und weit intensiver in NaOH-Lösung. Das *2-Thiothiazol* gibt analoge Färbungen mit Rhodanin in NH_3. *2,4-Dioxythiazol* gibt langsam Rotfärbung in NH_3 und intensive Carminrotfärbung in NaOH-Lösung. Die Derivate am C_5 und die N-Derivate verhalten sich analog. *Pseudothiohydantoin* gibt mit NH_3 nur schwache Rotfärbung, mit NaOH intensive Cremefärbung. Sehr ähnliche Färbungen werden mit sekundären Aminderivaten am C_2, z. B. *2-Methyl-* und *2-Allylpseudothiohydantoin*, mit den Derivaten am Kernstickstoff, z. B. *Pseudothiohydantoin-N-acetat*, und mit den C_5-Substituenten, z. B. *Isonitrosopseudothiohydantoin*, erhalten. — *Überführung der Thiazole in Natriumrhodanid.* Als einfacher Nachweis von Thiazolen, Benzthiazolen und Thiodiazolen dient die Bildung des Rhodanidions bei hinreichend langem Erhitzen dieser Substanzen mit überschüssigem metallischem Natrium. Man löst in Wasser und prüft mit Eisen(III)-lösung. Vor Durchführung der Reaktion überzeugt man sich zweckmäßig von der Abwesenheit von nicht festgebundenen Schwefelatomen, die bei längerem Rühren mit HgO in Äther oder Alkohol Schwarzfärbung geben. — *Farbreaktion mit Nitrit.* Bei Zugabe einiger Tropfen konzentrierter Natriumnitritlösung und Eisessig zu einer alkoholischen Lösung von *Rhodanin* oder eines anderen *2-Mercaptothiazols* tritt intensive rotviolette Färbung auf. Diese Reaktion zeigen Chrysean und andere Thiazolderivate nicht. — *Beim Erhitzen von Thiazolderivaten mit Diäthylsulfat* bildet sich in allen Fällen eine klare Lösung, die beim Rühren mit Ag_2O alkalische Reaktion gibt.

[1] Studi urbinati, N. S. C, **29**, 17—23 (1955). Univ. Urbino (Italien). — [2] Bull. Soc. Chim. [4] **41**, 1064 (1927). E. Förster

---

IV. Spezielle analytische Methoden

1. Analyse von Lebensmitteln

Die titrimetrische Bestimmung von Blei, Wismut, Kupfer, Zink, Cadmium, Kupfer, Quecksilber und Gold mit Dithizon in Lebensmitteln und biologischem Material beschreiben C. P. van Dijk und F. M. Slothouwer[1]. Man titriert mit

einer Dithizonlösung in Chloroform (bei Cu mit einer Dithizonlösung in Tetrachlorkohlenstoff) und schüttelt nach jeder Zugabe 1—2 min kräftig. Der Endpunkt ist erreicht, wenn die $CHCl_3$-(CCl_4-)Schicht grün gefärbt bleibt. Es lassen sich folgende Mengen der Metalle bestimmen: Pb 0,5—100 μg, Bi und Cd 1—100 μg, Cu und Zn 0,5—50 μg, Hg 0,1—100 μg, und Au 10—100 μg. — *Ausführung.* Das zu untersuchende Material wird zur Zerstörung der organischen Substanz in bekannter Weise mit $KClO_3$ + Salzsäure oder mit Schwefelsäure + Salpetersäure behandelt. In Anwesenheit von Quecksilber muß man darauf achten, daß sich nichts von dem Metall verflüchtigt. Die Bestimmung der einzelnen Metalle geschieht im wesentlichen folgendermaßen (die Originalarbeit enthält ausführliche Arbeitsvorschriften): 1. *Blei bzw. Blei + Wismut.* Man versetzt das Filtrat des Probenaufschlusses mit 2 ml 10%iger Hydroxylammoniumchloridlösung, 20 ml 30%iger Natriumcitratlösung, 2 ml 10%iger Kaliumcyanidlösung, fügt 25%ige NH_4OH-Lösung bis zur Grünfärbung von Thymolblauindicator (p_H 8,5) zu und schüttelt zuerst mit 3 ml, dann mit kleineren Anteilen starker Dithizonlösung (100 μg in 1 ml $CHCl_3$), bis die Chloroformschicht grün bleibt. Die vereinigten Chloroformextrakte werden mit 20 ml 1%iger Salpetersäure ausgeschüttelt, die $CHCl_3$-Schicht wird entfernt. Dann bringt man die wäßrige Schicht mit KCN auf p_H 8,5 und titriert mit verdünnter Dithizonlösung (50 μg in 1 ml $CHCl_3$, 1 ml entspricht 5 μg Pb bzw. Pb + Bi) bis zur bleibenden Grünfärbung. — 2. *Wismut* läßt sich durch Ausschütteln mit Dithizonlösung bei p_H 4 von Pb trennen, das zu etwa 97% in der wäßrigen Schicht bleibt. Man bringt die zu untersuchende Lösung mit 5%iger NH_4OH-Lösung auf p_H 4,0 (Grüngelbfärbung von Bromkresolgrün), gibt 2 ml 0,2 m Essigsäure-Acetatpuffer (p_H 4,0) zu und schüttelt mit kleinen Anteilen Dithizonlösung bis zur bleibenden Grünfärbung. Die vereinigten Extrakte werden mit 10 ml 1%iger Salpetersäure ausgeschüttelt, die wäßrige Schicht wird mit 4 Tropfen 10%iger KCN-Lösung versetzt, mit Ammoniak auf p_H 9,0 gebracht (Blaufärbung von Thymolblau) und mit Dithezonlösung zur Grünfärbung titriert. — 3. *Zink.* Man verfährt wie unter 1. angegeben, setzt aber kein KCN zu und benutzt zum Ausschütteln der zuerst erhaltenen Chloroformextrakte 10 ml 6 n Salzsäure. Der Verbrauch an Maßflüssigkeit entspricht der Summe Zn + Pb + Bi + Cd. Die Bestimmung von Pb + Bi geschieht nach 1. Zink (Zn + Cd) ergibt sich dann aus der Differenz. — *Cadmium.* Man schüttelt die ohne KCN Zusatz erhaltenen Chloroformextrakte mit 10 ml 5%iger Natronlauge, wobei die $CHCl_3$-Schicht in Anwesenheit von Cd deutlich rot gefärbt bleibt. Man schüttelt das Cd dann mit 1%iger Salpetersäure aus, bringt die wäßrige Schicht mit Ammoniak auf p_H 8,5 und titriert das Cd mit verdünnter Dithizonlösung. — 4. *Kupfer.* Man verfährt zunächst wie unter 1., aber ohne KCN-Zusatz, schüttelt die vereinigten Chloroformextrakte mit 15 ml 1 n Schwefelsäure und einigen Tropfen 0,5 n $KMnO_4$-Lösung (Au bleibt im Chloroform). In der wäßrigen Schicht reduziert man den $KMnO_4$-Überschuß mit einem kleinen Überschuß NH_2OH HCl-Lösung und schüttelt zur Entfernung von Hg mit Dithizonlösung bis zur Grünfärbung. Dann bringt man die wäßrige Schicht mit Ammoniak auf p_H 2,2 (Thymolblau), fügt 5 ml 0,1 m Hydrogenphthalat-Salzsäurepuffer p_H 2,2 zu und titriert Cu mit Dithizonlösung in Tetrachlorkohlenstoff. Pb, Bi, Zn stören nicht. — 5. *Quecksilber* kann nicht direkt mit Dithizonlösung titriert werden, da zwei Dithizonate HgD_z und HgD_{z_2} nebeneinander entstehen. Es werden ein indirektes Dithizontitrationverfahren und (bei kleinen Hg-Gehalten) ein colorimetrisches Verfahren empfohlen. — 6. Die Bestimmung von *Gold* erfolgt ebenfalls nach einem indirekten Titrationsverfahren, nachdem man Hg durch Glühen des mineralisierten Rückstäde der Probe entfernt hat.

[1] Chem. Weekbl. **1957**, 704—708 [Holländisch]. Rijksinst. Volksgezondheid, Utrecht (Holland). KLAUS BRODERSEN

Den Oxydationsgrad von Fetten, gemessen am Aldehydgehalt, bestimmen U. Holm, K. Ekbom und G. Wode[1] durch Kondensation der Aldehydgruppen mit Benzidin und Messung der Absorption des Kondensationsproduktes bei 350 mμ. — *Ausführung.* Man löst 1,5 g Fett oder Öl zu 25 ml in einem Gemisch von aldehydfreiem absol. Äthanol und 2,2,4-Trimethylpentan (1:1), versetzt 5 ml von dieser Lösung mit 0,5 ml 1%iger Benzidinlösung in Eisessig-Äthanol (1:1) und mißt nach 6 min die Extinktion bei 350 mμ gegen eine nur das Reagens enthaltende Blindlösung. Daneben mißt und subtrahiert man die Extinktion der Fettlösung ohne Reagens. Die molare Absorption wächst stark mit der Zahl der Doppelbindungen im Aldehyd. Sie beträgt 1,37 für Heptanal, 8,00 für 2-Nonenal, 16,00 für Citral und 18,00 für Zimtaldehyd. Mit dem letzten stellt man eine Eichkurve auf und wertet damit die Messungen an Fetten und Ölen aus.

[1] J. Amer. Oil Chemists' Soc. **34**, 606—609 (1957). Margarinbolaget, Bromma (Schweden). F. Neumann

Die Zuckerbestimmung mittels ÄDTA nach Potterat-Eschmann[1] haben H. Rentschler, H. Tanner und P. Dejung[2] auf ihre Anwendbarkeit in *süßen und vergorenen Getränken* hin untersucht. Aminosäuren, welche die Genauigkeit der Methode einschränken und auch auf die Beschaffenheit des Cu_2O-Niederschlages Einfluß haben, werden durch einen Kationenaustauscher entfernt (ein Glasrohr von 18 mm Durchmesser und 300 mm Länge wird 24 cm hoch mit Amberlite IR-105 in H^+-Form gefüllt). Um eine Adsorption von Zucker am Austauscher zu verhindern, läßt man vor dem Aufgeben der zu untersuchenden Getränke 200 ml einer 1—2%igen Sorbitlösung mit einer Geschwindigkeit von 1 Tropfen/sec durch die Säule fließen. Die Verff. kommen zu dem Ergebnis, daß die Methode für die angeführten Getränke mit großer Genauigkeit anwendbar ist, wenn außerdem noch folgende Bedingungen eingehalten werden: Pipetten und Büretten sollen vor der Benutzung durch Behandeln mit 10%iger alkoholischer Kalilauge und Spülen mit dest. Wasser gereinigt werden. Bei Serienbestimmungen soll zuerst die zu untersuchende Lösung in das Reaktionsgefäß eingebracht werden. Die Kupfer-ÄDTA-Lösung soll erst unmittelbar vor dem Erhitzen zugesetzt werden. Die Flamme muß vor Luftzug geschützt werden. Die zur Vermeidung von Siedeverzug benutzten Glaskugeln sollen nicht kleiner sein als 8—10 mm. Das Glasfilter soll die Porengröße 3 G 4 aufweisen. Da die Reinigung mit konz. Salpetersäure zu einer Erweiterung der Poren führt, muß man nach einer gewissen Zeit das Glasfilter erneuern. Zur Titration des aufgelösten Cu_2O-Niederschlages ist eine Bürette zu verwenden, bei der die Ablesung auf die 2. Dezimale der Milliliter möglich ist und bei der ein Tropfen kleiner als 0,05 ml ist.

[1] Potterat, M., u. H. Eschmann: Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **45**, 312 (1945); vgl. diese Z. **150**, 40 (1956). — [2] Mitt. Gebiete Lebensmittelunters. Hyg. (Bern) **48**, 238—247 (1957). Eidg. Versuchsanst., Wädenswil (Schweiz). L. Acker

Zur Bestimmung von Polyoxyäthylenestern, insbesondere Polyoxyäthylen-8-monostearat (I) in Backwaren ändern R. A. Garrison, V. Harwood und R. A. Chapman[1] die Methode von D. G. Stevenson[2] ab. Das Gebäck wird mit Salzsäure hydrolysiert, Fette werden mit Kalilauge und Kaliumcarbonat verseift, aus dem Chloroformextrakt wird I mit Wasser herausgelöst, mit Phosphormolybdänsäure + Bariumchlorid gefällt und schließlich colorimetrisch bestimmt. — *Arbeitweise.* In einem 15 ml-Zentrifugenröhrchen erhitzt man 0,5 g bei Zimmertemperatur getrocknetes und gepulvertes Brot mit 1 ml 6 n Salzsäure unter gelegentlichem Durchrühren 10 min im siedenden Wasserbad, kühlt in Leitungswasser, fügt nacheinander 3 Ätzkaliplätzchen hinzu (im ganzen etwa 0,42 g), stellt 30 min ins Wasserbad, gibt weiter 3 g Kaliumcarbonat dazu, erwärmt noch einmal 30 min im Wasserbad und

läßt 90 min bei Zimmertemperatur stehen. Die nahezu feste Masse extrahiert man 5mal mit je 4 ml Chloroform, verrührt jedesmal kräftig, zentrifugiert, filtriert durch ein Papierfilter und sammelt die Extrakte unter Nachwaschen des Filters mit 3mal 3 ml Chloroform in einem 25 ml-Meßkolben, welchen man bis zur Marke auffüllt. 2 ml von dieser Chloroformlösung extrahiert man 2mal mit 1,5 und einmal mit 1 ml Wasser durch Schütteln und kurzes Zentrifugieren in einem verschlossenen Zentrifugenglas. Die Wasserextrakte vereinigt man in einem frischen Zentrifugenröhrchen, schleudert an der Wand sitzende Chloroformtropfen ab, stellt ins siedende Wasserbad, versetzt nach 3 min mit 3 Tropfen 3 n Salzsäure, 2 Tr. 10%iger Bariumchloridlösung und 2 Tr. 10%iger Phosphormolybdänsäurelösung und läßt im Wasserbad über Nacht erkalten. Man zentrifugiert dann, wäscht den Niederschlag unter Zentrifugieren 3mal mit je 1,5 ml Wasser, löst ihn in 1,2 ml konz. Schwefelsäure, verdünnt mit Wasser auf etwa 6 ml, gibt erst 1,0 ml 5%ige Ammoniumthiocyanatlösung, dann 0,5 ml Zinn(II)-chloridlösung (35 g $SnCl_2$ in 10 ml konz. Salzsäure gelöst und mit Wasser auf 100 ml verdünnt) hinzu, verdünnt mit Wasser auf 12 ml, läßt 20 min bei Raumtemperatur stehen und mißt die Absorption bei 470 mμ gegen eine gleichzeitig mitangesetzte Blindlösung, welche man von 4 ml Wasser ausgehend bereitet, indem man wie bei der Analysenprobe Salzsäure, Bariumchlorid- und Phosphormolybdänsäurelösung hinzufügt und fortfährt wie oben. Zur Auswertung stellt man eine Eichkurve auf mit reinem I in absol. Methanol (1 g/l). Man pipettiert davon 0,5, 1,0, 2,0 und 3,0 ml in 15 ml-Zentrifugengläser, verdampft das Methanol auf dem Wasserbad, gibt in jedes Glas 0,5 g I-freies Brot und macht damit den Arbeitgsang durch. — Unter den gewählten Bedingungen ist die I-Erfassung zwar nicht vollständig, aber bei den Analysen- und Eichproben praktisch gleich. Die Ergebnisse sind auf etwa 5% reproduzierbar.

[1] J. Assoc. off. agric. Chemists **40**, 1085—1093 (1957). Food a. Drug Direct. Ottawa, Ontario (Canada). — [2] Analyst **79**, 504 (1954); vgl. diese Z. **146**, 224 (1955).

F. Neumann

Qualitative und quantitative Aminosäurebestimmungen an einigen wichtigen Speisepilzen führen C. Seelkopf und H. Schuster[1] mit Hilfe eines kombinierten Hydrolyseverfahrens und anschließender Papierchromatographie durch. Zur Isolierung des Eiweißes aus dem biologischen Material dient 8 Std langes Erhitzen der Pilze unter Stickstoff mit 5 n Ameisensäure. Die Trennung von den Kohlenhydraten geschieht mit Quecksilber(II)-acetat- und Sodalösung bei p_H 7—8. Die Hydrolyse des Proteins führen die Verff. mittels Quecksilber(II) als Katalysator mit einem Gemisch aus gleichen Teilen 6 n Salzsäure und 5 n Ameisensäure unter Stickstoff durch. Da Cystin-Cystein bei Quecksilberzusatz verlorengehen, bestimmen sie diese gesondert. Zur qualitativen Analyse der Aminosäuren wird zweidimensional auf Papier chromatographiert, mit Phenol p_H 12 in der ersten, mit n-Butanol-Eisessig-Wasser in der zweiten Dimension. Im zweiten Chromatogramm werden tert. Butanol-Methyläthylketon-Wasser in der ersten, tert. Butanol-Methanol-Wasser in der zweiten Richtung verwendet. Entwickelt wird mit Ninhydrinlösung, wobei sich die Aminosäuren blau, die Iminosäuren gelb färben. Histidin lokalisiert man mit diazotierter Sulfanilsäure, Tryptophan mit salzsaurer p-Dimethylaminobenzaldehydlösung. Zur quantitativen papierchromatographischen Aminosäurebestimmung verfahren Verff. nach E. F. McFarren und I. A. Mills[2]. Die Versuche zeigen, daß der wahre Eiweißgehalt stark von den aus dem Stickstoffgehalt errechneten Proteinwerten abweicht. Letztere sind stets zu hoch, da das stickstoffreiche Chitin, sowie Harnstoff, Nitrate und Ammoniumverbindungen mitbestimmt werden. Mit dem Trocknen und Lagern der Pilze ist eine geringe aber tragbare Abnahme des Eiweißgehaltes verbunden. In bezug auf die Zusammensetzung des Eiweißes besteht kein wesentlicher Unterschied bei jungen

und alten Pilzen. Dagegen unterscheidet sich das Pilzeiweiß nicht nur in wesentlichen Punkten vom Eiweiß höherer Pflanzen, sondern es treten auch innerhalb der verschiedenen Pilzarten in der Zusammensetzung des Eiweißes große Differenzen auf. Die Originalarbeit enthält zahlreiche weitere Einzelheiten in bezug auf die angewendetenAnalysenmethoden und die Auswertung der Ergebnisse.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **106**, 177—187 (1957). Univ. Würzburg. — [2] Analyt. Chemistry **24**, 650 (1950). HANNA RITZEL

Zum Nachweis des Lebensmittelfarbstoffes Rhodamin B trägt E. BECK[1] bei, indem er zeigt, daß Farbstoffe mit basischem Charakter, zu denen das Rhodamin B neben Rhodulinorange NO und Brillantgrün u. a. gehört, sich bei kleinen Konzentrationen nur in wäßriger oder ammoniakalischer Lösung und kaum in saurer Lösung auf Wolle auffärben lassen. Zur Anfärbung der Wolle in saurer Lösung ist eine höhere Farbstoffkonzentration notwendig. Die stark rosa-gelblichorange charakteristische Fluorescenz, die mit Rhodamin B gefärbte Lebensmittel im UV-Licht zeigen, kann als Vorprobe dienen. Im Gegensatz zu allen anderen zugelassenen Farbstoffen löst sich Rhodamin B farblos in Äther. Zum Nachweis kann man das (wasserfreie) Lebensmittel (z. B. Zuckerwaren) im Mörser mit Äther verreiben, den Äther verdampfen und den Rückstand mit Wasser aufnehmen. Dabei kommt die bläulichrote Farbe wieder zum Vorschein. Bei der chromatographischen Bestimmung von anderen Farbstoffen (z. B. den roten Farbstoffen *Ponceau 6R*, *Cochenillerot A*, *Naphtholrot S*, *Echtrot E* und *Orange SXX*) stört Rhodamin B, das als lang sich hinziehendes Band im Chromatogramm erscheint. Das störende Rhodamin B kann aber leicht durch Extraktion mit Äther entfernt werden.

[1] Pharmazie **12**, 825—827 (1957). Bez.-Hyg.-Inst. Potsdam. HANNA RITZEL

Zur Bestimmung von Benzoesäure in Lebensmitteln haben P. SPANYÁR, E. KEVEI und M. KISZEL[1] den bekannten, von J. V. JANOVSKY[2] angegebenen qualitativen Nachweis ausgebaut. Die Benzoesäure wird dabei zur 3,5-Dinitrobenzoesäure nitriert, die in alkalischer Lösung auftretende Blaufärbung wird photometrisch ausgewertet. Zur Abtrennung der Benzoesäure aus den Lebensmitteln wird aus schwefelsaurer Lösung ausgeäthert. Je nach Lebensmittelart (die Lebensmittel werden hierzu in 5 Gruppen unterteilt) ist hier noch eine Vorbehandlung vorgeschaltet. Von dem so gewonnenen Ätherextrakt (aufgefüllt auf 100 ml) werden 20 ml in einem weithalsigen 50 ml-Erlenmeyer-Kolben vorsichtig im Wasserbad zur Trockne eingedampft, wobei die letzten Reste Äther bei 60—70° C entfernt werden. Den Rückstand erhitzt man mit 5 ml Nitriersäure (10 g KNO_3 in 100 ml konz. Schwefelsäure) 35 min lang im siedenden Wasserbad unter häufigem Umschütteln. Nach Abkühlenlassen in kaltem Wasser setzt man 5 ml Wasser zu, kühlt nochmals ab und überführt das Gemisch in einen Scheidetrichter (200—250 ml) unter Nachspülen mit 5 ml Wasser. Man schüttelt 5 min lang mit 30 ml Äther aus. Nach Abtrennen der wäßrigen Phase wäscht man die Ätherschicht mit 20 und dann mit 10 ml Wasser, filtriert sie durch wasserfreies Na_2SO_4 in eine kleine Porzellanschale, wäscht mit 10 ml Äther nach und dampft zur Trockne ein. Man nimmt mit 3 mal 5 ml Aceton- abs. Alkohol-Gemisch (1:1) auf und überführt in ein graduiertes 15 ml-Reagensglas. Dem zu erwartenden Benzoesäuregehalt entsprechend mißt man 0,5 bis 5,0 ml in ein graduiertes 20 ml-Reagensglas ab, ergänzt mit dem Gemisch zu 14,7 ml und fügt genau 0,3 ml 5%ige Natronlauge zu. Nach Umschütteln stellt man in Eiswasser und mißt frühestens nach 30, spätestens aber nach 70 min im Pulfrich-Photometer mit Filter S 57 in einer 0,5 cm-Küvette gegen eine Lösung aus 14,7 ml Aceton-Alkohol-Gemisch und 0,3 ml 5%iger Natronlauge. Der Gehalt an

Benzoesäure errechnet sich aus der Eichkurve unter Berücksichtigung der vorgenommenen Einwaagen und Verdünnungen.

[1] Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forsch. **107**, 118—124 (1958). Forsch.-Inst. Konserven-, Fleisch- u. Kälteind., Budapest (Ungarn). — [2] Ber. dtsch. chem. Ges. **19**, 2155 (1886). L. Acker

Vitamine. *Über die Bestimmung von Vitamin A in Lebertran* berichtet S. Erbe[1]. Verf. überprüft alle üblichen biologischen, chemischen und physikochemischen Verfahren und gibt für den Kolpokeratosetest[2], die $SbCl_3$-Methode[3], die auf der Reaktion mit Glycerindichlorhydrin beruhende Methode[4] und den Leberspeicherungstest von K. Guggenheim u. W. Koch[5] modifizierte Arbeitsvorschriften. Als physikalisch-chemische Methode wird das spektrophotometrische Verfahren von R. A. Morton u. A. L. Stubbs[6] mit der Dreipunkt-Korrektion hervorgehoben. Nach der Auffassung des Verf. liefert die $SbCl_3$-Methode für den Apothekenbetrieb genügend exakte Werte. Den Kolpokeratosetest bezeichnet er als eleganteste und schnellste biologische Methode.

[1] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland **96**, 611—620 (1957). Pharmakol. Inst., Univ. Halle. — [2] Moll, Dalmer, H. H. v. Dobeneck, G. Domagk u. Laquer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Pathol. Pharmakol. **170**, 176 (1933). — [3] Carr, F. H., u. E. A. Price: Biochemic. J. **20**, 497 (1926). [4] Sobel, A. E., u. H. Werbin: Analyt. Chemistry **19**, 107 (1947). — [5] Biochemic. J. **38**, 256 (1944); vgl. diese Z. **155**, 389 (1957). — [6] Analyst **71**, 348 (1946). L. Acker

Die Bestimmung von Cobalamin über die spektrophotometrische Bestimmung von Kobalt mit 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol (PAN) beschreiben H. Flaschka und A. A. Abd el Raheem[1]. Wegen der störenden Einflüsse bei der direkten Bestimmung der Cobalamine besitzt eine rasche Bestimmung über das Co zur Bestätigung einiges Interesse. Gemessen wird dabei der tiefgrün gefärbte Kobalt(III)-PAN-Komplex, der sich aus dem Kobalt(II)-PAN-Komplex bei p_H 5 mit Hilfe des gelösten Sauerstoffs bildet. — *Ausführung.* Zur *Aufstellung der Eichkurve* werden aus einer Ultramikrobürette entsprechende Mengen einer Kobaltnitratlösung abgemessen. Die höchstens 5 μg enthaltende Probe wird in einem 25 ml-Meßkolben auf p_H 5—6 gebracht. Dann gibt man 0.3 ml einer 0.1%igen alkoholischen PAN-Lösung zu, läßt 5 min stehen und versetzt dann mit 5 ml Äthanol und 1 ml Schwefelsäure (1:10). Man füllt mit Wasser fast auf, läßt bei Raumtemperatur abkühlen und füllt dann bis zur Marke auf. Man mißt die Extinktion bei 585 mμ in einer 5 cm-Küvette gegen eine Blindlösung. Unter den angegebenen Bedingungen kann man auch den Co-Gehalt in μg in 25 ml ohne Eichkurve errechnen, indem man die Extinktion mit 15.27 multipliziert. — Zur *Bestimmung von Co in Cobalaminen* überführt man ein bekanntes Volumen eines Cobalaminpräparates, das nicht weniger als 50 μg enthalten soll, in ein Reagensglas und fügt zwei Tropfen konz. Schwefelsäure hinzu. Man erhitzt zum Sieden, gibt, wenn die Flüssigkeit gelb geworden ist, 1 Tropfen H_2O_2 zu und erhitzt noch 3 min. Nach Neutralisation überführt man die farblose Lösung in einen 25 ml-Meßkolben und verfährt wie oben. Das Molekulargewicht der Cobalamine wird mit 1300 angesetzt. Bei Auffüllen auf 25 ml und unter Verwendung einer 5 cm-Küvette errechnet sich der Gehalt an Cobalamin in μg/ml Präparat zu: Extinktion $\times$ 345/ml Präparat. Die Methode ist für eine rasche orientierende Bestimmung der Cobalamine in *pharmazeutischen Präparaten* gut geeignet.

[1] Chemist-Analyst **46**, 95—97 (1957). Ministry Public Health Labs., Kairo (Ägypten). L. Acker

Zur quantitativen Bestimmung von Vitamin D im Rattentest teilen G. Bährecke und H. Gebauer[1] ihre Erfahrungen mit. Der prophylaktische Röntgentest mit einer Versuchsdauer von 15 Tagen wird für die Methode der Wahl gehalten. Zur Methode von F. Holtz, G. Pfennigsdorf u. W. Ponsold[2], die von diesen Verff. zur Aufnahme in das DAB VII vorgeschlagen worden ist, wird kritisch Stellung genommen. Verff. gründen ihr Vorgehen auf die Erfahrungen von Scheunert u. Schieblich[3]. Es werden nähere Angaben über Tiermaterial und Haltung der Versuchstiere gemacht. Für Standard- und Testsubstanz werden mindestens 3 Gruppen zu mindestens 10 Tieren je Gruppe verwendet. Gegenüber den rachitogenen Diäten von McCollum Nr. 3143 und Steenbock Nr. 2965 wird auf die Rehbrücker Diät verwiesen, die eine größere Wachstumsintensität verbürgt. Als Standard dient krist. Vitamin D_2, das in einer Stammlösung mit 10000 IE/g in Klauenöl verabreicht wird. Diese Stammlösung ist 2—3 Monate brauchbar. Weiterhin werden sehr ausführlich diskutiert die Applikation, das Röntgen der Ratten, die Beurteilung der Röntgenbilder und schließlich die Ermittlung der Versuchsergebnisse.

[1] Pharmazie **12**, 592—600 (1957). Anst. f. Vitaminforschg. u. -prüfg., Potsdam-Rehbrücke. — [2] Arzneimittel-Forsch. **5**, 557 (1955); vgl. diese Z. **152**, 229 (1956). — [3] Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. **2**, 1934. L. Acker

---

4. Analyse von biologischem Material

Elektrophorese. *Methoden und Ergebnisse der Immunoelektrophorese in Agar-Gel* hat Ch. Wunderly[1] in einer über 100 Literaturzitate enthaltenden Übersicht zusammengestellt. Behandelt werden das Prinzip der Methode mit theoretischen Grundlagen, die Meßtechnik (auch nach der Mikromethode) und die Auswertung der Präzipitatlinien, zum Teil im Vergleich mit der Papier- und der freien Elektrophorese. Ein Abschnitt ist der Erörterung der Grenzen der Methode vorbehalten.

[1] Experientia (Basel) **13**, 421—434 (1957). Med. Univ.-Klinik, Zürich (Schweiz). K. Cruse

Die papierelektrophoretische Serumanalyse nach der Durrum-Methode[1] haben Ch. M. Kaplan, H. F. Weisberg und L. Dow[2] an 50 verschiedenen Blutserumproben mit der fällungsanalytischen Fraktionierung der Serumproteine nach Wolfson u. Mitarb.[3] verglichen. Unter völlig gleichen Bedingungen bezüglich der Entnahme des Blutes und seiner Aufbewahrung bis zur Analyse, werden jeweils zwei Proben nach jeder Methode analysiert. Die Pherogramme werden nach Bedämpfen mit Ammoniak im Analytrol-Gerät durchgemessen, die chemische Fraktionierung wird in der Modifizierung nach J. G. Reinhold[4] durchgeführt. Der Vergleich liefert als wesentliche Ergebnisse: Papierelektrophoretisch wird im Durchschnitt ein zu geringer Albumingehalt angezeigt. Der Fehler ist auf Schleppenbildung zurückzuführen. Für die größere Streuung der Albuminwerte nach den papierelektrophoretischen Messungen wird größere Empfindlichkeit der Methode und die damit verbundene Erkennbarkeit von Strukturänderungen des Proteins verantwortlich gemacht. Im Durchschnitt wird papierelektrophoretisch etwa die doppelte Menge α-Globulin angezeigt und ein zu niedriger Gehalt an β-Globulin, beides Resultate, die auf der größeren Ungenauigkeit der chemischen Methode beruhen sollen, da sie dort als Differenzwerte anfallen. Der papierelektrophoretisch höhere γ-Globulingehalt wird mit einem Albuminanteil gedeutet, da die Albuminschleppe bis in die γ-Globulinzone reicht. Die Gesamtproteinkonzentration der Probe ist für die Reproduzierbarkeit papierelektrophoretischer Analysen entscheidend, da die

Schleppenbildung der Albuminzone davon abhängt. Außerdem werden bei zu geringer Konzentration die Globulinfraktionen nur schlecht getrennt und weil schließlich auch die Auswertung mit dem Analytrol-Gerät weniger zuverlässig ist. Für zuverlässige Analysen wird grundsätzlich der Vergleich mit der Analyse eines bekannten Serums empfohlen.

[1] Block, R. J., E. L. Durrum u. G. Zweig: Paper Chromatography; Paper Electrophoresis, p. 393; Acad. Press. New York 1955. — [2] J. Lab. clin. Med. **50**, 657—666 (1957). Med. School a. Mt. Sinai Med. Res. Found., Chicago, Ill. (USA). — [3] Wolfson, W. Q., C. Cohn, E. Calvary u. F. Ichiba: Amer. J. clin. Pathol. **18**, 723 (1948); vgl. diese Z. **160**, 223 (1958). — [4] Total Protein, Albumin a. Globulin, Standard Methods of Clinical Chemistry, pp. 88—97, vol. 1, Acad. Press. New York 1953. K. Cruse

Mit der Charakterisierung von immunoelektrophoretisch getrennten Fraktionen biologischer Flüssigkeiten befassen sich Untersuchungen von J. Uriel[1], vornehmlich unter dem Gesichtspunkt, daß erst mehrere Eigenschaftsprüfungen — hier z. B. die elektrophoretische Beweglichkeit, die Immunospezifität und die Struktur oder auch das chemische Verhalten —, die Identität einer Substanz ausreichend sicherstellen. — Die einfache Elektrophorese in Gel als Träger nach P. Grabar und C. A. Williams jr.[2] verlangt eine Fixierung im Gel und das Entwässern des Gels nach der Elektrolyse und vor der densitometrischen Analyse. Wird immunoelektrophoretisch gearbeitet, so erübrigt sich zwar die Fixierung, an ihre Stelle tritt jedoch die langwierige Wässerung. Da Substanzen bei diesen Maßnahmen bereits Veränderungen erfahren können, wird auf die rechtzeitige Einschaltung der Charakterisierungsreaktionen besonders hingewiesen, die bei der Immunoelektrophorese allerdings unter allen Umständen erst nach der Wässerung erfolgen kann. An Normalserum- und an Ceruloplasmin-Analysen nach beiden Verfahren und bei Vergleich der allgemein üblichen Anfärbung aller Zonen mit der spezifischen Färbung mit Kupfer[3] sowie der enzymatischen Aktivität der einzelnen Zonen wird die Bedeutung dieser Zusammenhänge für die Identifizierung von Fraktionen erläutert und bewiesen.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 17—23 (1958). Inst. Pasteur, Paris (Frankreich). — [2] Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **10**, 193 (1953); **17**, 67 (1955). — [3] Uriel, J., u. P. Grabar: J. méd. Suisse **14**, 401 (1957). K. Cruse

Zur quantitativen Analyse elektrophoretischer Protein-Fraktionen verwendet E. Balle-Helaers[1] die Polarographie und nutzt dabei aus, daß die Brdička-Adsorptionsstufe in verdünnten Proteinlösungen der Konzentration proportional ist und in einem für jedes Protein spezifischen Verhältnis wächst. Außerdem wird in alkalischer Lösung gearbeitet, in der sich die polarographische Aktivität der Proteine als besonders groß erwiesen hat. — *Arbeitsvorschrift.* Das mit Bromphenolblau gefärbte, aber nicht getrocknete Pherogramm von 20 μl Serum wird der Länge nach durchschnitten, so daß stets zwei Zonenhälften zur Analyse zur Verfügung stehen. Die dann abgeschnittenen Fraktionen werden in der polarographischen Zelle mit 1 ml 0,1 n Kalilauge eluiert und denaturiert, indem sie 30 min darin belassen bleiben. Dann erfolgt Zugabe von 3 ml Leitsalzlösung. Nach weiteren 10 min wird der Papierstreifen entnommen und dabei mit 1 ml Leitsalzlösung (mit Co) abgespült. (Der Streifen darf nicht mehr fleckig gefärbt sein.) Dann wird bei —1,4 V beginnend bis —1,8 V polarographiert (6 Tropfen Quecksilber während einer Spannungsänderung von 0,1 V). Bei geringen Konzentrationen muß die Elektrode mit Wasser abgespült und mit Filtrierpapier abgetupft sein und zunächst (bei —1,4 V) die Einstellung eines stabilen Elektrolysestroms abgewartet werden. Vergleichende Messungen (spektralphotometrisch und mit Biuret) bestätigen, daß

Mengen von 5—150 μg/ml Leitsalzlösung außerordentlich empfindlich und zuverlässig nach dieser Methode erfaßt werden. Nur für γ-Globulin muß ein Korrekturfaktor 2 verwendet werden. Die Untersuchungen sind an Normalserum, aber auch an pathologisch verändertem Serum durchgeführt worden.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 51—56 (1958). Lab. d'Analyses Medicales, Brüssel (Belgien). K. Cruse

Die Bestimmung anorganischer Ionen, insbesondere Quecksilber, Kupfer und Zink im Speichel mit Hilfe der Papierchromatographie beschreiben S. Grässler und M. Büchner[1]. — *Arbeitsweise.* Der gesammelte Speichel, etwa 10 ml, wird bei einer Höchsttemperatur von 200° C verascht. 0,05 ml der hergestellten Lösung werden unter ständigem Antrocknen auf das Papier (Schl. & Sch. 2043b, glatt) aufgetragen. Anschließend wird mit einer gleichteiligen Mischung aus 3 n Salzsäure und n-Butanol aufsteigend etwa 20 Std chromatographiert. Nach gründlichem Trocknen, Bedampfen mit Ammoniak (Kupfer durch hellblauen Fleck zu erkennen) und Besprühen mit einer Lösung von Dithizon in Chloroform (1:100) sind sämtliche Elemente sichtbar (Quecksilber gelb, Zink rot). Auf die Anwendung dieser Methode zur Untersuchung von Speichel auf Anteile *zahntechnisch verwendeter unbeständiger Legierungen* wird hingewiesen.

[1] Ärztl. Laborat. **3**, 396 (1957). 1. Med. Klinik, Stadtkrankenhaus Dresden-Friedrichstadt. D. Jentzsch

Als empfindliche und spezifische Mikromethode zur Thalliumbestimmung in biologischem Material geben R. Truhaut und C. Boudene[1] folgendes *Verfahren* an: Zunächst werden z. B. 5—30 ml Harn mit 5 ml Salpetersäure und 800 μg Blei (als Bleinitratlösung mit 1% Salpetersäure und 2 mg Pb/ml) im Mikro-Kjeldahlkolben bis auf 150° C erhitzt und abgeraucht, erforderlichenfalls nach abermaliger Zugabe von 1 ml Salpetersäure. Für 2—10 ml Blut wird die Mineralisierung mit 10 ml Salpetersäure, 800 μg Blei und Abrauchen durch mehrfache Zugaben von Salpetersäure und 100%igem Perhydrol empfohlen. Der weiße Rückstand wird dann mit 0,5 ml rauchender Salzsäure zur Trockne eingedampft. Das Thallium wird zusammen mit Blei durch Fällung angereichert. Dazu wird der in 4 ml 10%iger Hydroxylaminhydrochloridlösung aufgenommene Rückstand einige Minuten gekocht und mit 4 ml Acetatpufferlösung (5 g Eisessig, 11 g Natriumacetat-Trihydrat in 100 ml) in ein Zentrifugenglas übergeführt, das am Boden eine Platineinschmelzung besitzt und später als Polarographiergefäß[2] verwendet wird. Gefällt wird mit 2 ml 30%iger Kaliumjodidlösung, die 0,2% Na_2SO_3 enthält. Tropfenweise wird dann schließlich in der Kälte Bleinitratlösung zugesetzt bis zur bleibenden Trübung. Die Lösung, deren p_H-Wert jetzt zwischen 4 und 4,5 liegen soll, wird 4 Std sich selbst überlassen. Die TlJ-PbJ_2-Fällung wird dann 10 min (3000 U/min) zentrifugiert, die überstehende Lösung wird dekantiert, die letzten Tropfen werden nach Umstülpen mit Filtrierpapier entfernt. Mit etwa 10 Tropfen Salpetersäure und 2 Tropfen Perhydrol wird zur Trockne eingedampft und mit 10 Tropfen Wasser das Abdampfen wiederholt. Mit 0,5 ml Hydroxylaminhydrochloridlösung wird etwa die Hälfte der Fällung in der Siedehitze reduziert, dann wird abgekühlt, zur Maskierung des Bleis mit 0,5 ml ÄDTA-Lösung (6%ige Lösung des Dinatriumsalzes) versetzt, außerdem werden 0,8 ml der Pufferlösung und 0,2 ml 10%ige Harnstofflösung zugegeben. Die Lösung hat dann einen p_H-Wert von 4—4,5. Nach Durchperlen von Stickstoff wird unter Stickstoff polarographiert und zur Auswertung der Thalliumstufe bei — 0,43 V mit Eichpolarogrammen verglichen. Wenige μg Tl werden auf 10% genau erfaßt, ohne daß Blei oder Wismut stören.

[1] Bull. Soc. chim. France **1957**, 1504—1507. — [2] Abbildung vgl. diese Z. **162**, 229 (1958). K. Cruse

Über eine Methode der Mikrobestimmung von Thallium in Harn, Blut und Faeces, die 0,5 μg Tl mit 5% Genauigkeit zu erfassen gestattet, berichtet N. V. Reis[1]. Die Methode gründet sich auf die Messung der Farbintensität der durch Einwirkung von $TlCl_4^-$ auf Brillantgrün gebildeten Verbindung (vgl. L. N. Lanin und V. O. Gein[2]). — *Ausführung.* Man gibt zu 1 ml der zu untersuchenden Lösung 4 ml 5 n Salzsäure und 2 ml 6,9 g in 100 ml Wasser enthaltender $NaNO_2$-Lösung. Nach 5 min setzt man 0,3 ml einer Lösung von 1 g Brillantgrün in 100 ml 25%igem Alkohol zu. Hierauf fügt man nach schnellem Umschütteln unmittelbar 2,5 ml Toluol hinzu und gießt nach 15 sec langem, kräftigem Schütteln die gefärbte Toluollösung in die Küvette. Die Photometrierung erfolgt im Farbmaximum der Lösung bei 610 mμ. Als Kompensationsflüssigkeit dient eine in gleicher Weise bereitete Tl-freie Lösung oder reines Toluol.

[1] Laborat. Delo **3**, H. 6, 12—16 (1957) [Russisch]. Mediz. Inst. Samarkand. — [2] Mitt. Komm. analyt. Chem., Akad. Wiss. UdSSR, **1956**, 217. E. Förster

Zur Bestimmung von eiweißgebundenem Jod im Serum beschreiben R. D. Strickland und C. M. Maloney[1] eine verbesserte Titrationsmethode, die ebenso wie die meisten gebräuchlichen Methoden auf der Messung des katalytischen Effekts von Jod (bzw. JCl) auf die Cerat-Arsenitreaktion beruht. Die Reaktion wird in einem bestimmten Zeitpunkt durch Zugabe von Quecksilber(II)-salz zum Stillstand gebracht, worauf man das unverbrauchte Cer(IV) mit einer durch Zugabe von 2,2′-Dipyridyl stabilisierten Eisen(II)-lösung titriert. 0,5 ml Serum genügen, um den Jodgehalt in weniger als 3 Std mit einem Fehler von weniger als 10% zu bestimmen. Der normale Jodgehalt beträgt 3,60—7,36 μg je 100 ml Serum. — Nach genauer Untersuchung des Einflusses der Versuchsbedingungen geben die Verff. eine ausführliche *Arbeitsvorschrift*, die im folgenden gekürzt wiedergegeben ist: Man versetzt 0,5 ml Serum mit 5 ml 7,2%iger Perchlorsäure (aus frisch destillierter 72%iger Säure durch Verdünnen 1 : 10 hergestellt), mischt gut durch, zentrifugiert 5 min mit 2500 U/min, gießt die überstehende Flüssigkeit ab und entfernt die Flüssigkeitsreste sorgfältig mit Filtrierpapier. Gleichzeitig setzt man eine Blindprobe mit 0,5 ml jodfreiem Wasser und Vergleichsproben mit 0,5 ml Standardlösung an [5 und 10 μg J (als KJ) in 100 ml enthaltend]. Jede Lösung wird mit 1 ml Chromatlösung (0,613 g $K_2Cr_2O_7$ in 250 ml) und 5 ml Chlorsäure (aus 250 g $KClO_3$, 450 ml Wasser und 188 ml 72%iger Perchlorsäure gewonnen) versetzt, heiß durchgemischt und auf einer Heizplatte auf 1 ml eingeengt. Wird die Lösung dabei grünstichig (Reduktion von Chromat), so stellt man sofort durch Zugabe von 1 Tropfen Chlorsäure die gelbe Farbe wieder her. Nach geringer Abkühlung setzt man noch 1 ml Chlorsäure zu, engt auf 1 ml oder weniger ein, kühlt, versetzt mit 8 ml Arsenitlösung (6,50 g $NaAsO_2$ + 29 mg NaCl + 500 ml 12,5 m Schwefelsäure im Liter) mischt gut durch, ergänzt mit Wasser auf 9 ml, beläßt 15 min in einem Wasserbad von 37° C und gibt in 1-Minutenabständen in jedes Rohr 1 ml ebenfalls auf 37° C gebrachter Ceratlösung (31,6 g Ammoniumtetrasulfatocerat + 83,5 ml konz. Schwefelsäure in 500 ml), Nach genau gemessener Zeit (15—20 min) gießt man den Inhalt jeder Röhre in einen Kolben, der 2 Tropfen 1%ige wäßrige $Hg(NO_3)_2$-Lösung enthält, wäscht mit 3 mal 5 ml jodfreiem Wasser nach und titriert dann mit Eisen(II)-lösung (1,3 g $FeSO_4 \cdot 7\,H_2O$ + 0,72 g 2,2′-Dipyridyl im Liter) bis die Rotfärbung bestehen bleibt.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1870—1873 (1957). Veterans Admin. Hosp., Albuquerque, N.M. (USA). K. Söllner

Serumeisenbestimmung für die Klinik. S. I. de Vries[1] stellt fest, daß die Bestimmung von Serumeisen und Hämoglobin allein für die Überwachung des Eisenstoffwechsels nicht ausreicht. Ein wesentlich besseres Bild für den klinischen

Gebrauch geben gleichzeitige Bestimmungen des Eisenbindungsvermögens der Totalkapazität und des Sättigungsgrades. Oft genügt auch schon die Bestimmung des Eisenbindungsvermögens zur Feststellung von Eisenmangel. Mit Hilfe oraler und intravenöser Belastungsproben können Resorptionsstörungen ermittelt werden. — *Arbeitsweise.* 25 ml Blut, das im nüchternen Zustand entnommen wird, werden wie üblich enteiweißt, und in 6 ml Serum wird das *Serumeisen* nach L. Heilmeyer u. K. Plöttner[2] bestimmt. Zur Bestimmung des *Eisenbindungsvermögens* vermischt man nach C. E. Rath u. C. A. Finch[3] 2 ml Serum mit 5 ml physiologischer Kochsalzlösung und mißt nach 3 min die Extinktion gegen Wasser. Dann werden 0,1 ml-Portionen Eisenstandardlösung, die 10 μg Fe/ml enthält (man kann diese Lösung durch Verdünnen aus der Standardlösung herstellen, die zur Serumeisenbestimmung benutzt wird), zugegeben und nach jeweils 3 min wird gegen Wasser abgelesen, bis die Extinktion konstant bleibt und die maximale Eisenmenge erreicht ist. Das Eisenbindungsvermögen wird in μg/100 ml angegeben. Die *Totalkapazität* ergibt sich aus der Summe Serumeisen + Eisenbindungsvermögen. Der *Sättigungsgrad* wird nach Serumeisen · 100/Totalkapazität berechnet.

[1] Nederl. Tijdschr. Geneeskunde **1957**, 2276—2289 [Holländisch]. (Mit engl. Zus.fass.) Lab. Bluttransfusionsdienst, Wilhelmina-Gasthaus, Amsterdam (Holland). — [2] Klin. Wschr. **15**, 1669 (1936). — [3] J. clin. Invest. **28**, 79 (1949).

Margot Zimmermann

Die Bestimmung von Ketonkörpern aus 0,1 ml Blut oder Urin mittels einer kombinierten Rückfluß- und Destillationsapparatur (Abb. im Original) beschreiben P. A. Mayes und W. Robson[1]. Die Proben werden vor der Destillation durch Schütteln mit $Ba(OH)_2$ und $ZnSO_4$ enteiweißt. Man bestimmt einerseits Aceton und Acetessigsäure, anderseits β-Hydroxybuttersäure. Letztere wird mit Dichromat zu Aceton oxydiert, wobei aber nur 85,9% wiedergefunden werden. Der Wert ist jedoch gut reproduzierbar. Legt man ihn der Berechnung zugrunde, so ergeben sich bei Zusatzversuchen von Calciumzink-DL-β-hydroxybutyrat zu Blut und Urin Ausbeuten von 99,7%. Das destillierte Aceton wird in 2,4-Dinitrophenylhydrazin aufgefangen, als Aceton-2,4-Dinitrophenylhydrazon mit Tetrachlorkohlenstoff 150 min ausgeschüttelt und bei 350 oder 410 mμ gemessen. Das Beersche Gesetz wird von 0—80 mg Aceton/100 ml Blut befolgt, die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei 0,03 mg/100 ml. Ausführliche Arbeitsvorschriften, deren genaue Einhaltung erforderlich ist, sind im Original angegeben.

[1] Biochemic. J. **67**, 11—15 (1957). King's College, London. B. Rossmann

Die Biuretbestimmung von Serumproteinen mit dem Reagens von Benedict untersuchen R. J. Henry, Ch. Sobel und S. Berkman[1]. Trübungsstörungen durch Phospholipide können am besten durch Ätherextraktion entfernt werden. Hohe Salzkonzentrationen (Na_2SO_4, Na_2SO_3) sollen vermieden oder müssen dadurch eliminiert werden, daß man eine Blindprobe mit ähnlichen Konzentrationen verwendet. Ammoniumionen stören bis zu 0,8 m in der Originalprobe nicht. Bilirubin kann bis zu 25 mg/100 ml anwesend sein. Zur Korrektur der Fehler, die durch Hämolyse entstehen, muß die Hämoglobinkonzentration bestimmt werden. — *Reagenslösung.* 17,3 g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ werden in 100 ml heißem Wasser und 17,3 g Natriumcitrat mit 100 g wasserfreiem Natriumcarbonat in 800 ml Wasser unter Erhitzen gelöst. Nach dem Abkühlen rührt man die Citrat-Carbonatlösung in die Kupfersulfatlösung ein und verdünnt auf 1 l. — *Bestimmung.* 0,1 ml Serum in 4,9 ml 0,75 n Natronlauge (oder 2,5 ml der durch Verdünnen von 1 ml Serum auf 25 ml mit physiologischer Kochsalzlösung erhaltenen Lösung + 2,5 ml 1,5 n Natronlauge) versetzt man mit 1 ml Reagenslösung und prüft nach 15 min mit Hilfe des

Tyndall-Effektes auf Trübung. Bei negativem Ausfall mißt man die Lösung und eine Standardprobe gegen eine Blindprobe bei 545 mμ. Ist die Lösung trübe, so schüttelt man mit 3 ml Äther 30—60 sec aus und zentrifugiert 5 min. Die Löslichkeit des Äthers in der wäßrigen Phase bewirkt eine Volumenzunahme, aber trotzdem eine Absorptionszunahme, so daß eine Korrektur von —2% gegenüber der nicht extrahierten Blindprobe angebracht werden muß.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1491—1495 (1957); Biol. Sci. Labs., Los Angeles, Calif. (USA). H. Freytag

Lipoproteine in Humanserum und in Ultrazentrifugaten hat F. A. Pezold[1] vergleichenden Untersuchungen mittels der Papierelektrophorese und der Elektrophorese in Agargel[2] unterzogen und festgestellt, daß zwar die Proteinfraktionen, nicht aber die Lipoproteinfraktionen in beiden Verfahren übereinstimmen. β-Lipoproteine wandern im Agargel nicht im Bereich der β-Globuline und ein Teil der α-Lipoproteine wandert in Agargel in der Albuminzone, ein anderer Teil der Albuminzone voraus. Lipoproteine unterliegen damit vermutlich einer gewissen Dissoziation in Agargel, so daß die Agarelektrophorese zur Diagnose eines α-Lipoproteinmangels der Papierelektrophorese vorzuziehen ist.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 40—44 (1958). Med. Klinik, Freie Univ. Berlin. — [2] Uriel, J., u. P. Grabar: Ann. Inst. Pasteur **90**, 427 (1956).
K. Cruse

Zur Analyse der Harnproteine verwendet J. Heremans[1] zunächst die Anreicherung durch Ultrafiltration und anschließend die Elektrophorese auf Papier mit Veronal-Acetat-Pufferlösung (p_H 8,6, Ionenstärke 0,1) oder mit 0,1 n Acetatlösung (p_H 4,7). Die Probe wird durch Zugabe von 3% Natriumchlorid und Filtrieren von Harn-Mucoprotein befreit, dann werden 80 ml unter Stickstoffdruck durch Membranfilter (bei Raumtemperatur) filtriert. Sind nur noch wenige Zehntel ml auf dem Filter, dann wird Pufferlösung zugegeben und zu Ende filtriert, so daß die vom Filter leicht abzuhebenden Kolloide sich bereits im gewünschten p_H-Wert befinden. Sie werden — je nach vermutlichem Gehalt 20—200 μl — auf Whatman-Papier Nr. 1 aufgelegt und parallel zu einer Albuminprobe der Elektrophorese, Trocknung, Färbung mit Amidoschwarz und nach Zerschneiden der Elution mit 0,1 n Natronlauge unterworfen und bei 640 mμ photometriert. Die Eichkurve ist der Menge von 5—150 μg Protein direkt proportional, d. h. jede Proteinurie kann einwandfrei erfaßt werden. Die typischen Merkmale der Pherogramme für drei verschiedene Grade der Proteinurie werden eingehend diskutiert, die Resultate werden mit Parallelanalysen nach Donaggio[2] verglichen.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **3**, 34—39 (1958). Univ. Löwen (Louvain) (Belgien). — [2] Vgl. auch Heremans, J.: Rev. belge Pathol. Méd. exp. **26**, 1 (1957).
K. Cruse

Die Bestimmung von Peptiden in Gegenwart freier Aminosäuren führen A. Markovitz und D. Steinberg[1] nach folgendem *Verfahren* durch: Man ermittelt zunächst titrimetrisch nach der Methode von D. D. van Slyke, D. A. MacFadyen und P. Hamilton[2] die vorhandenen Aminosäuren, indem man das Analysenmaterial in einem von M. Calvin u. Mitarb. beschriebenen Kleindestillierapparat mit 100 mg Citratpuffer vom p_H-Wert 2,5 und 150 mg Ninhydrin versetzt, mit Wasser auf 3 ml ergänzt und den Ansatz 13 min lang im siedenden Wasserbad erhitzt. Das bei dieser Reaktion entstehende Kohlendioxyd fängt man, während der letzten 3 min unter Eiskühlung, in vorgelegter Barytlauge auf und titriert deren Überschuß zurück. Dann zerstört man das überschüssig zugesetzte Ninhydrin durch Zusatz von 1 ml

30%iger Wasserstoffperoxydlösung, 3 min langes Erhitzen im siedenden Wasserbad und darauffolgendes Eindampfen der Reaktionsflüssigkeit im Stickstoffstrom. Zuletzt erhitzt man 5 min lang unter einem Vakuum von 20—30 mm Hg auf 100° C. Nun hydrolysiert man den Peptidrückstand durch 16—18stündiges Erhitzen mit 6 n Salzsäure auf 115—120° C und entfernt durch wiederholtes Eindampfen zur Trockne den Überschuß an Salzsäure. Schließlich nimm man den Hydrolysenrückstand in 1—2 ml Wasser auf, stumpft die Lösung mit 1 n Natronlauge auf p_H 3 ab und verfährt zur Bestimmung der Peptid-Aminosäuren wie oben.

[1] J. biol. Chemistry **228**, 285—293 (1957). Nat. Heart Inst., Bethesda, Md. (USA). — [2] J. biol. Chemistry **141**, 671 (1941); vgl. auch diese Z. **151**, 76 (1956).

K. Söllner

4 Methoden zur Mikrobestimmung von 2,3-Diphosphoglycerinsäure (DPGS) teilen J. C. Towne, V. W. Rodwell und S. Grisolia[1] mit. Bei den beiden ersten Methoden erfolgt die Auswertung spektrophotometrisch, bei den beiden letzten colorimetrisch. — 1. Hier wird der katalytische Effekt von DPGS auf Phosphoglycerinsäuremutase[2] (PGSM) ausgewertet. — *Ausführung.* In eine Quarzküvette gibt man die DPGS-Probe, 0,50 ml einer DGSM-freien Enolaselösung, die 40 Einheiten[3] enthält, 200 µMole Tris-(hydroxymethyl)-aminomethanpufferlösung (Tris) vom p_H-Wert 7,0, 30 µMole $MgSO_4$, 1,8 µMole DL-2-Phosphoglycerat und Wasser auf 2,9 ml. Nach Mischen läßt man bei 30° C ins Gleichgewicht kommen. Die Anfangsextinktion wird bei 240 mµ gegen einen Blindansatz registriert, der alles außer 2-Phosphoglycerat enthält. Dann gibt man in beide Küvetten je 0,10 ml einer Lösung mit 1,8 PGSM-Einheiten und mißt einige Minuten den Extinktionsabfall. Die endogene Reaktionsrate wird ebenfalls bestimmt. Mit konstanten PGSM-Konzentrationen stellt man Standardkurven her, aus denen man die Werte entnimmt, da nur bei niedrigen DPGS-Konzentrationen die Reaktionsraten linear sind. — 2. Es handelt sich um eine Modifikation der 1. Methode mit anderem p_H-Wert (p_H 9), bei dem die PGSM-Aktivität um etwa das 25fache sinkt, aber der Reaktionsablauf in wenigen Minuten und der DPGS-Effekt leicht gemessen werden kann. — *Ausführung.* Man verfährt im Prinzip wie oben mit folgenden Komponenten: DPGS-Probe, 10 µMole gereinigte 3-Phosphoglycerinsäure (3-PGS)* (vgl. S. 292), 200 µMole Trislösung, p_H 9,0, 30 µMole $MgSO_4$, 40 Einheiten PGSM-freie Enolase und Wasser auf 2,9 ml. Für die Reaktionsauslösung setzt man wieder 0,10 ml PGSM-Lösung zu. — 3. Die Methode beruht darauf, daß Streptokokkenextrakte unter geeigneten Bedingungen Citrullin bilden[4] und dabei ATP aus 3-PGS regenerieren; diese Regeneration ist von DPGS abhängig. Die ATP-Regeneration wird in üblicher Weise an dem entstandenen Pyruvat gemessen. — *Ausführung.* Man stellt Ansätze her von 50 µMolen gereinigter 3-PGS, 3 µMolen ADP, 30 µMolen $MgSO_4$, 120 µMolen $KHCO_3$, 120 µMolen NH_4Cl, 30 µMolen L-Ornithin, 155 µMolen Trislösung, p_H 8,0, 1,6 mg Brenztraubensäurekinase als PGSM-Quelle, 1,6 mg Gefriertrockenextrakt aus Streptokokken, Stamm D 10, Gruppe D, und DPGS-Probe auf 3 ml. Die Ansätze läßt man 20 min bei 38° C stehen, bevor man die gebildete Brenztraubensäure bestimmt. — 4. Es handelt sich um eine einfache Modifikation der Methode 3. — *Ausführung.* Man stellt folgende Ansätze her: 2,0 ml DPGS-Probe; 20 µMole ADP in 2,0 ml Lösung; 50 µMole gereinigte 3-PGS; 400 µM Tris-Phosphatpuffer, p_H 7,3; 30 µMole $MgSO_4$; 1,0 mg Enolase; 0,5 mg Brenztraubensäurekinase (die beiden letzten Substanzen enthalten als Verunreinigung eine für die Methode genügende Menge PGSM). Ein Kontrollansatz für die endogene Rate läuft mit. Alle Bestandteile werden bei 0° C gemischt und für 30 min in ein Wasserbad von 38° C gestellt. Man kühlt 5 min im Eisbad, enteiweißt mit 2,0 ml 10%iger Perchlorsäure, zentrifugiert und benutzt aliquote Teile zur Pyruvatbestimmung. Die Werte entnimmt

man einer analog angefertigten Standardkurve. Muß man den Korrektionswert für endogenes Pyruvat, 2-PGS, Phosphoenolbrenztraubensäure und 3-PGS (bei Anwesenheit von DPGS) ermitteln, macht man Ansätze ohne 3 PGS.

[1] J. biol. Chemistry **226**, 777—788 (1957). Dept. Med., Univ. Kansas City (USA). — [2] Sutherland, E. W., T. Posternak u. C. F. Cori: J. biol. Chemistry **181**, 153 (1949). — [3] Rodwell, V. W., J. C. Towne u. S. Grisolia: Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **20**, 394 (1956). — [4] Grisolia, S., D. P. Wallach u. H. J. Grady: Biochim. biophysica Acta (Amsterdam) **17**, 150 (1955).

* 3-PGS ist häufig mit DPGS verunreinigt und dann hier unbrauchbar. Ein Reinigungsverfahren über Dowex 1 ist im Original angegeben.

E. Müller, Würzburg

Eine Schnellmethode zur Bestimmung von kleinen Mengen an Lactose in Milch und Gewebesuspensionen aus der Milchdrüse von Ratten gibt T. F. Slater[1] an. Es können Mengen zwischen 5 und 200 μg erfaßt werden. Die Methode beruht auf der Reaktion zwischen Lactose, Orcin und Fe^{III}-Ionen in saurer Lösung. — *Ausführung.* 1 ml Milch wird durch Zugabe von Trichloressigsäure bis zu einer Endkonzentration von 5% enteiweißt. Dann füllt man auf 250 ml mit Wasser auf. 1 ml des klaren Filtrats wird 10 min lang in einem siedenden Wasserbad mit 3 ml einer 0,1%igen Lösung von $FeCl_3$ in konz. Salzsäure und 0,5 ml einer 10%igen Lösung von Orcin in abs. Alkohol erhitzt. Nach Abkühlen werden 2 ml abs. Alkohol zugefügt, worauf man die Extinktion bei 670 mμ mißt. Die Auswertung erfolgt an Hand einer Eichkurve.

[1] Analyst **82**, 818—825 (1957). Univ. College, London (England). L. Acker

Mucopolysaccharide trennt S. Gardell[1] chromatographisch auf Cellulosesäulen durch fraktionierte Elution mit stufenweise oder kontinuierlich verdünntem Äthanol. — *Arbeitsweise.* Cellulosepulver wird mit Wasser angerührt, die Aufschlämmung durch Evakuieren entlüftet, in eine chromatographische Säule gefüllt und darin mit Wasser gewaschen (erst unter Absaugen bei 30—40 cm Hg, dann durch 2 m hydrostatischen Wasserdruck), bis im Ablauf keine Kohlenhydrate mehr nachzuweisen sind; zuletzt wird das Wasser durch eine 0,3%ige Bariumacetatlösung in 80%igem Äthanol verdrängt. Die zu trennende Polysaccharidmischung löst man zur 10%igen Lösung in einer 0,3%igen wäßrigen Bariumacetatlösung. Hiervon gibt man auf die Säule je 0,5 ml für je 1 cm^2 Querschnitt (bei 20 cm Höhe), spült die Glaswand innen mit wenig Bariumacetatlösung nach und wäscht mit wenigstens 3 Rohrfüllungen von 80%igem Äthanol mit 0,3% Bariumacetat, um die Kohlenhydrate quantitativ im oberen Teil der Säule auszufällen. Bei der Elution mit stufenweise verdünntem Äthanol läßt man dessen Konzentration in einem Vorversuch jedesmal um 5% abnehmen und wendet von jeder Konzentration 3 bis 4 (Cellulosepulver-) Bettfüllungen an; im Hauptversuch kann man gewöhnlich mehrere Konzentrationsstufen überspringen. Die Durchflußgeschwindigkeit darf nur 5—10 ml/Std für je 1 cm^2 Säulenquerschnitt betragen. Bei kontinuierlicher Verdünnung benutzt man am besten einen automatischen Zuflußregler, z. B. den nach B. Lindberg u. B. Wickberg[2], mit 2 Vorratsgefäßen verschiedenen Querschnitts, gefüllt mit 0,3%iger Bariumacetatlösung, einmal in 80%igem Äthanol, das andere Mal in Wasser. Die Fraktionen von 5—7 ml untersucht man in bekannter Weise auf ihren Kohlenhydratgehalt, z. B. mit Carbazol nach S. Gurin u. D. B. Hood[3] oder/und Cystein nach Z. Dische u. L. B. Shettles[4]. — In Versuchen mit den Polysacchariden aus Nucleus pulposus war die Trennung in glucosamin- und galaktosaminhaltige Zucker durch stufenweise verdünnten Alkohol schärfer als

durch kontinuierlich verdünnten. — Die chromatographische Aufteilung erwies sich der sonst üblichen fraktionierten Fällung überlegen.

[1] Acta chem. scand. (Kopenhagen) **11**, 668—675 (1957). Karolinska Inst., Stockholm (Schweden). — [2] Acta chem. scand. (Kopenhagen) 8, 569 (1954); vgl. diese Z. **146**, 132 (1955). — [3] J. biol. Chemistry **131**, 211 (1939). — [4] J. biol. Chemistry **175**, 595 (1948); vgl. diese Z. **139**, 54 (1953). F. Neumann

Die Strukturbestimmung klinisch verwendeter Dextrane führen J. D. Moyer und H. S. Isbell[1] nach einem neuen Verfahren durch. Man oxydiert 120 mg des in kohlendioxydfreiem Wasser gelösten Dextrans durch 120stündige Einwirkung von 10 ml 0,25 m Natriumperjodatlösung in einem Gesamtvolumen von 250 ml bei 20° C im Dunkeln und ermittelt in einem aliquoten Teil des Ansatzes die gebildete Ameisensäure durch Titration mit Bariumhydroxydlösung gegen Phenolphthalein als Indicator. Hierdurch lassen sich die am Molekülbau des Dextrans beteiligten 1,6′-Ketten berechnen. Einen weiteren Teil der Oxydationslösung versetzt man nach Kühlung mit Eis mit Schwefeldioxyd, um den Überschuß an Perjodat zu zerstören, dann hydrolysiert man die polymeren Dialdehyde durch 12stündiges Erhitzen im siedenden Wasserbad und ermittelt papierchromatographisch die entstandenen Monosen. Neben sehr geringen Anteilen Pentose lassen sich hierbei D-Glucose (I) und D-Erythrose (II) nachweisen. Das übrige Hydrolysat versetzt man nach der Entfernung des Schwefeldioxydes und der durch dessen Oxydation entstandenen Schwefelsäure mit ^{14}C-markiertem Natriumcyanid, wodurch nach 4tägigem Stehen und anschließend 2stündigem Erhitzen im siedenden Wasserbad I und II in die entsprechenden Nitrile übergeführt werden. Diese verseift man, ohne sie vorher zu isolieren, zu den Aldonsäuren, welche man in Form ihrer Natriumsalze auskristallisieren läßt. Behandelt man Lösungen mit bekannten Gehalten an I und II auf die gleiche Weise, so lassen sich durch Vergleich der Radioaktivität beider Kristallisationen die Mengen von I und II in den Hydrolysaten der oxydierten Dextrane berechnen, wodurch sich der Anteil an 1,3′- bzw. 1,4′-Ketten in deren Molekül ergibt. Die Arbeit enthält ausführliche Arbeitsvorschriften für die Durchführung der einzelnen Operationen.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1862—1866 (1957). Nat. Bur. Standards, Washington, D. C. (USA). K. Söllner

Die papierchromatographische Trennung von Adrenalin (I), Noradrenalin (II), und Hydroxytyramin (III) führen H. Weil-Malherbe und A. D. Bone[1] nach folgendem *Verfahren* durch: Man trägt das in Aceton gelöste, nach einem im Original beschriebenen Verfahren aus *Blut* oder *Plasma* isolierte Analysenmaterial auf einen 48×8 cm großen Streifen Whatman-Papier Nr. 1, der nach einem früher von Verff. beschriebenen Verfahren[2] präpariert worden ist, auf und beschickt einen zweiten Streifen mit Lösungen der Bezugssubstanzen. Die Entwicklung erfolgt entweder absteigend mit der organischen Phase des Systems n-Butanol-Essigsäure-Wasser (4:1:5), wobei die Stoffe folgende R_f-Werte zeigen: I 0,31, II 0,28, III 0,38, oder aufsteigend mit Phenol-Wasser (3:1 w/v) in mit Phenol und Chlorwasserstoff gesättigter Atmosphäre mit den R_f-Werten I 0,52, II 0,30 und III 0,48. Nach 16stündiger Laufzeit bei Raumtemperatur trocknet man die Chromatogramme, wäscht, wenn Phenolwasser als mobile Phase verwendet worden ist, dieses durch 3malige Extraktion mit Benzol aus und besprüht den Streifen mit den Bezugssubstanzen mit einer Mischung von 2 Tl. 10%iger Äthylendiaminlösung und 8 Tl. Ammoniaklösung. Nach dem Trocknen lassen sich die Stoffe durch ihre gelbe Fluorescenz im UV-Licht erkennen.

[1] Biochemic. J. **67**, 65—72 (1957). Runwell Hosp., Wickford, Essex (England). — [2] Biochemic. J. **58**, 132 (1954). K. Söllner

Die Bestimmung von Catechinaminen im Harn mit einem Kaninchenaortaschnitt als Hilfsmittel zur Diagnose von Phaeochromocytoma wird von M. HELMER und R. M. SANDERS[1] durchgeführt. Zur Analyse genügen Harnmengen, die einer Ausscheidung in 0,1—0,2 min entsprechen. Bei Einwirkung von 0,2 ml Harn zeigt ein spiralförmig geschnittener Streifen von 40—45 mm Länge in einer Muskelkammer maximale Kontraktion, während bei Harn von Individuen mit normalem Blutdruck nur unbedeutende Verkürzung auftritt. Der Streifen wird vor der Probe mit einer 0,2% Glucose enthaltenden Hydrogencarbonatlösung nach KREBS behandelt. Bei der Untersuchung perlt durch die Lösung ein Gas mit 95% O_2 und 5% CO_2 zur Sicherung eines p_H-Wertes von 7,4.

[1] J. Lab. clin. Med. **50**, 737—744 (1957). Lab. clin. Res., Gen. Hosp., Indianapolis, Ind. (USA). E. FÖRSTER

Eine Apparatur zur Bestimmung des Carotins im Blutserum beschreibt P. I. SALEI[1]. Die Apparatur besteht im wesentlichen aus Luftbad sowie Pipette mit Gummibirne und Schlauch zum Ansaugen. — Zu 0,1 ml Serum werden 2 ml Äthylalkohol zugegeben, dann wird 2 min umgerührt, 2 ml werden Petroläther zugesetzt, leicht geschüttelt, zuletzt werden tropfenweise 2 ml dest. Wasser zugegeben. Nach 5 min Abstehen wird 1 ml der Ätherlösung mit der Gummibirne in die Pipette eingesaugt. Man läßt die Ätherlösung tropfenweise in ein Porzellanschälchen einfließen. Jeder Tropfen wird über dem Luftbad eingedampft, so lange bis der Boden des Schälchens eine deutliche Gelbfärbung aufweist, die dann einem Gehalt von 0,05 µg Carotin entspricht. Aus der an der Pipette zu messenden verdampften Menge der Ätherlösung berechnet sich leicht der Gehalt an Carotin in 0,1 ml Serum (bei 0,5 ml eingedampftem Ätherauszug wären es 200 µg Carotin in 100 ml Serum).

[1] Laborat. Delo **4**, H. 1, 52—53 (1958) [Russisch]. Wiss. Forschungsinst. der Veterinärstation, Voroneš. A. v. WILPERT

Zur fluorimetrischen Bestimmung des Gesamtcholesterins haben D. B. MCDOUGAL jr. und H. S. FARMER[1] das Verfahren von R. W. ALBERS und O. H. LOWRY[2] für kleinste *Plasma-* oder *Organvolumina* modifiziert. — *Arbeitsweise.* 4 µl Serum (oder z. B. Leberhomogenat) gibt man zu 40 µl Eisessig-Trichloräthan (3:2) in 10×75 mm Teströhrchen. Durch gründliches Mischen wird der dabei gebildete Niederschlag wieder gelöst. Zur klaren Lösung fügt man nun 1,0 ml eines frisch bereiteten Gemisches aus Trichloräthan und Essigsäureanhydrid (5:1) und schüttelt gut durch. Nach weiterem Zusatz von 40 µl konz. Schwefelsäure wird sofort abermals gut durchgeschüttelt und nun zentrifugiert. Die klare überstehende Lösung kann nach etwa 60 min in einem Fluorimeter gemessen werden. Als Primärstrahl dient Licht der Quecksilber-Linie 546 mµ, gemessen wird bei 590 mµ. Als Filter sind geeignet: primär Corning-Filter Nr. 4010 und 5120, secundär Nr. 2424. Zur Eichung des Gerätes bewährten sich 0,01—0,1 mg %ige Lösungen von Safranin O oder Rhodamin B in 0,01 n HCl. Blindproben und Standardlösungen werden auf gleiche Weise gemessen. Oberhalb von 5 µg Cholesterin/ml ist die Fluorescenz der Konzentration nicht mehr proportional. — Wenn mehr als 4 µl Serum zur Verfügung stehen, verdünnt man 10fach mit Eisessig-Trichloräthangemisch. Dieser Lösung entnimmt man 40 µl, gibt sie zu 1 ml der Mischung aus Trichloräthan und Essigsäureanhydrid und verfährt wie oben beschrieben. — Bei Zusatzversuchen (6—15 µg/4 µl) fanden die Verff. eine Ausbeute von im Durchschnitt 96% (Schwankung 91—105%). Die Übereinstimmung mit den Methoden von A. SAIFER und O. F. KAEMMERER[3] sowie von R. W. ALBERS und O. H. LOWRY[2] sind gut. Bezüglich der Spezifität wird auf das ursprüngliche Verfahren[2] hingewiesen.

[1] J. Lab. clin. Med. **50**, 485—488 (1957). Washinton Univ. School Med., St. Louis, Mo. (USA). — [2] Analyt. Chemistry **27**, 1829 (1955); vgl. diese Z. **153**, 458 (1956). — [3] J. biol. Chemistry **164**, 657 (1946). H. PELZER

Zur Chromatographie von Steroidkonjugaten beschreibt I. E. Bush[1] einige neue Lösungsmittelsysteme: a) 2 n wäßriges Ammoniak und ein gleiches Volumen n-Butanol oder Methyläthylketon oder Äthylendichlorid : tert.-Butanol (3:1 v/v). b) Toluol : tert.-Butanol : Eisessig : Wasser in Mischungsverhältnissen zwischen 75:25:30:70 und 85:15:30:70 (v/v). c) Äthylendichlorid : tert.-Butanol : Eisessig : Wasser in Verhältnissen zwischen 75:25:30:70 und 90:10:30:70 (v/v). Es werden die Whatman-Papiere Nr. 2, 3, 31 und 3M verwendet; die Sättigungsdauer beträgt 3—15 Std, die Laufzeit 3—24 Std bei 18—26° C. Nahe verwandte Verbindungen werden am besten in den sauren Systemen chromatographiert, wo sie R_f-Werte um 0,25 (Glucuronide und Sulfate) haben. Zur Gruppentrennung bewähren sich die alkalischen Systeme, in denen die Sulfate mit hohen R_f-Werten wandern und völlig von den Glucuroniden abgetrennt werden. Die geringe Schwanzbildung der Sulfate in den sauren Systemen kann man durch Zusatz von 1% Salzsäure verhindern. — Verf. bringt keine R_f-Werte, betont aber, daß er mit obigen Systemen die bedeutenderen 17-Ketosteroidglucuronide und -sulfate, sowie die Glucuronide von Tetrahydrocortison und Tetrahydrocortisol trennen kann. Daneben habe er zwei andere noch unbekannte Konjugationsformen im menschlichen Harn entdeckt. — Die beschriebenen Lösungsmittelsysteme wurden auch zur Chromatographie größerer Substanzmengen an Celite-Säulen verwendet.

[1] Biochemic. J. **67**, 23P—24P (1957). Radcliffe Infirmary, Oxford (England).
H. Pelzer

In einer Mitteilung über *Steroidkonjugate* beschreiben H. Pelzer und W. Staib[1] die Hochspannungspapierelektrophorese von 17-Ketosteroidkonjugaten. 17-Ketosteroidsulfate (KSS) und 17-Ketosteroidglucuronide (KSG) konnten in der Apparatur von G. Werner und O. Westphal[2] bei Verwendung von 0,17 n Triäthanolamin-Acetatpuffer p_H 7,5 und einer Spannung von 38 V/cm in 3—4 Std gut voneinander getrennt werden. In einem Pherogramm synthetischer KSS wurden nach 3 Std folgende „R_B"-Werte (zurückgelegte Strecke, bezogen auf die von Bromphenolblau = 1,0) erhalten: *Androsteronsulfat* (AS) 0,92; *Dehydroisoandrosteronsulfat* (DHAS) 0,87; *Testosteronsulfat* (TS) 0,88; *Oestronsulfat* (OeS) 0,78. Die Lokalisation der Zonen erfolgte durch UV-Kontaktphotographie (TS) und durch Anfärben mit Zimmermann-Reagens (1 Vol.-Teil einer Lösung von 7 g KOH in 50 ml 90%igem Äthanol + 1 Vol-Teil einer 2%igen äthanolischen m-Dinitrobenzollösung). Bei der Anwendung des Verfahrens auf einen Harnextrakt, bereitet nach R. W. H. Edwards, A. E. Kellie und A. P. Wade[3], erhielt man neben KSS und KSG noch 4 weitere Zimmermann-positive Zonen, die nicht identifiziert wurden. Die KSG-Zone wurde ausgeschnitten, mit Wasser eluiert und das Eluat mit β-Glucuronidase hydrolysiert. Die nun mit Äther extrahierbaren freien 17-Ketosteroide ergaben bei der Papierchromatographie in Propylenglykol/Benzin Androsteron und Ätiocholanolon. Die KSS-Zone hatte einen R_B-Wert wie die synthetischen KSS, wurde aber nicht weiter untersucht. — Das Verfahren läßt sich auch zur Trennung größerer Mengen (Versuche mit 3,5 mg AS auf 10 cm) verwenden, wenn man nach Th. Wieland und G. Pfleiderer[4] statt Filterpapier Papierpulver (Schl. & Sch. Nr. 123) verwendet, das mit Puffer getränkt ist. Stärke als Träger hat sich nicht bewährt.

[1] Clin. chim. Acta (Amsterdam) **2**, 407—415 (1957). Med. Akad., Düsseldorf. — [2] Angew. Chem. **67**, 251 (1955); vgl. diese Z. **149**, 125 (1956). — [3] Mem. Soc. Endocrinol. **2**, 53 (1953). — [4] Angew. Chem. **67**, 257 (1955); vgl. diese Z. **149**, 125 (1956).
H. Pelzer

Die Bestimmung von ^{14}C-Steroiden auf Papierchromatogrammen kann nach D. L. Berliner, O. V. Dominguez und G. Westenskow[1] direkt auf dem entwickelten Papierstreifen vorgenommen werden. Hierfür koppelt man ein integrierendes

Zählgerät mit einem Kurvenschreiber derart, daß das zu beschreibende Millimeterpapier die gleiche Strecke je Zeiteinheit wie der zu messende Chromatogrammstreifen (unter dem Zählrohr) zurücklegt. Läßt sich die Empfindlichkeit des Zählgerätes verändern (z. B. 1 Skalenlänge = 100, 300, 1000, 3000, 10000 Impulse/min [I/min]), so muß man die in der Kurve gemessene Fläche F (in cm^2) entsprechend multiplizieren, um sie jeweils auf den gleichen Skalenmaßstab S (z. B. 100 I/min) umzurechnen: $(F \times S)/100$. Die so erhaltenen korrigierten Flächengrößen sind proportional der im Papier vorhandenen Radioaktivität, während die Höhe der Amplituden kein genaues Maß für die Aktivität darstellt. Sie ist abhängig von der Breite der Zonen und damit vom R_f-Wert. Es sind Messungen mit (CW) und ohne (SW) Zählrohrfenster („Micromil") durchgeführt worden. Da bei CW die weichen β-Strahlen abgeschirmt werden, ist die Empfindlichkeit, aber auch die mittlere Fehlerbreite kleiner als bei SW. Die durch Messung der beschriebenen Kurvenfläche (F) erhaltenen Radioaktivitäten (P) lassen sich mit Hilfe eines Faktors auf die tatsächlichen Aktivitäten umrechnen. Der Faktor ist ein Maß für die Selbstabsorption des Papiers. Er läßt sich experimentell bestimmen, indem man die Zonen des ausgemessenen Chromatogrammstreifens einzeln möglichst quantitativ eluiert, auf geeigneten Aluminiumschälchen zur Trockne bringt und die Aktivitäten mißt (E). Der Faktor ist nun das Verhältnis E/P. Er ist bei Verwendung sehr kleiner Steroidmengen (Selbstabsorption), gleichen Chromatographiepapiers und gleichen Lösungsmittelsystems praktisch konstant. Es konnte beobachtet werden, daß selbst bei reinsten Proben während der Entwicklung eines Chromatogramms immer ein kleiner Prozentsatz der Radioaktivität „auf der Strecke liegen bleibt", bei den Systemen von I. E. Bush[3] mehr als bei denen von A. Zaffaroni[2]. Das Verhältnis $\log (F\ (cm^2) \times S)\ 100 : \log$ I/min ist dann im Bereich mindestens dreier Zehnerpotenzen (100—10000 I/min) konstant. — Das schon in einer früheren Arbeit von D. L. Berliner und H. A. Salhanik[4] erwähnte Gerät ist in vorliegender Arbeit ausführlicher beschrieben.

[1] Analyt. Chemistry **29**, 1797—1800 (1957). College Med., Univ. Salt Lake City, Utah (USA). — [2] Recent Progress in Hormone Research, Vol. VIII p. 51 Academic Press, New York 1953. — [3] Recent Progress in Hormone Research, Vol. IX, p. 321 Academic Press, New York 1954. — [4] Analyt. Chemistry **28**, 1608 (1956); vgl. diese Z. **157**, 158 (1957). H. Pelzer

Zur Fraktionierung der neutralen 17-Ketosteroide aus Harnextrakten empfehlen W. Staib und W. Schild[1] die Gradient-Elutions-Chromatographie nach T. K. Lakshmanan und S. Lieberman[2]. Diese Methode ist für die Bearbeitung klinisch-diagnostischer Fragestellungen gut geeignet und kann zu Reihenuntersuchungen angewandt werden. Verff. haben die von Lakshmanan und Lieberman beschriebene Apparatur abgeändert, indem sie als Mischgefäß einen 1 Liter-Zweihalsrundkolben verwenden. Zur Chromatographie werden 100 g wasserfreies Aluminiumoxyd (Firma Woelm, Eschwege) mit 7—8 ml Wasser versetzt und kräftig geschüttelt. Den gleichen Feuchtigkeitsgehalt erhält man durch Zusatz von 0,6 ml Wasser zu 15 g Aluminiumoxyd nach Brockmann (Merck). Das Adsorbens hat nun einen Wassergehalt, wie er von E. Dingemanse, L. G. Huis In't Veld und S. L. Hartoch-Katz[3] durch tagelanges Aufbewahren von Aluminiumoxyd über 58%iger Schwefelsäure erhalten worden ist. — *Arbeitsweise.* Der neutrale Harnextrakt (nach G. Birke und L. O. Plantin[4] hydrolysiert und extrahiert) wird in 10 ml trockenem Benzol gelöst, durch eine Aluminiumoxydsäule (15 g Adsorbens, ∅ 10—11 mm, Höhe 18—21 cm) gepreßt und mit 10 ml Benzol nachgewaschen. Dann beginnt man mit der Gradient-Elution. Im Hershberg-Tropftrichter befinden sich 150 ml einer Lösung von 4% Äthanol in Benzol (Lösung I), die mit einer konstanten Geschwindigkeit von 0,33 ml/min (Überdruck aus einer Stickstoffbombe) in das Mischgefäß

tropft. Dieses enthält zu Beginn der Chromatographie 700 ml reines Benzol, das mit Hilfe eines Magnetrührers mit der ständig zutropfenden Lösung I gut vermischt wird. Bei einer Elutionsgeschwindigkeit von 2,5 ml/min fängt man in einem automatischen Fraktionensammler 70—80 Fraktionen von je 10 ml Eluat auf. Von jeder einzelnen Fraktion pipettiert man einen aliquoten Teil (bei 5—8 mg 17-Ketosteroiden (17-KS) je 2 ml; bei 8—20 mg je 1 ml) in ein Schliffreagensglas, dampft im Stickstoffstrom bei 40° C zur Trockne und bestimmt den Gehalt an 17-KS nach W. Zimmermann, H. U. Anton und D. Pontius[5]. Die entsprechenden 17-KS-Konzentrationen der einzelnen Fraktionen liest man an einer mit Dehydroisoandrosteron oder Androsteron aufgestellten Eichkurve ab und trägt die Werte in ein Koordinatensystem ein. Die zu einem 17-KS-Maximum gehörenden Eluate werden zusammengegossen, im Vakuum zur Trockene eingedampft und mittels Papierchromatographie und gegebenfalls Infrarotanalyse identifiziert. Zur Eichung der Säulenchromatographie mit Reinsubstanzen verwendet man mit Vorteil die leicht zugänglichen Steroide Dehydroisoandrosteron, Androsteron und Ätiocholanolon, die in dieser Reihenfolge quantitativ getrennt eluiert werden. Die bei Harnextrakten erst bei höheren Äthanolkonzentrationen eluierbaren 17-KS sind von den Verff. zwar papierchromatographisch weiter gereinigt aber nicht eindeutig identifiziert worden. Es handelt sich sehr wahrscheinlich um 11-oxygenierte 17-KS. — Die mit der beschriebenen Methode erhaltenen Normalwerte von Männern und Frauen stimmen gut mit den von G. Birke und L. O. Plantin[4] angegebenen Werten überein. — Die Arbeit enthält eine genaue Beschreibung und Zeichnung der modifizierten Gradient-Elutionsapparatur.

[1] Klin. Wschr. **1958**, 166—169. Mediz. Akad., Düsseldorf. — [2] Arch. Biochem. Biophysics **53**, 258 (1954); vgl. diese Z. **150**, 211 (1956). — [3] J. clin. Endocrinol. **12**, 66 (1952). — [4] Acta med. scand. **148**, Suppl., 291 (1954). — [5] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **289**, 91 (1952); vgl. diese Z. **140**, 238 (1953). H. Pelzer

Trennung, Nachweis und Bestimmung von C_{21}-17,20-Dihydroxy-20-methylsteroiden mit Hilfe der Papierchromatographie beschreibt R. I. Cox[1]. Bei Verwendung von Whatman-Papier Nr. 1 und dem Lösungsmittelsystem Benzol-Formamid (25° C, 12 Std) werden folgende R_f-Werte (bezogen auf I = 1,00) erhalten: Pregnan-3α,17α,20α-triol (I) 1,00; Pregnan-3α,17α, 20β-triol (II) 1,22; Δ^5-Pregen-3β, 17α, 20α-triol (III) 0,91; Allopregnan-3α, 17α, 20α-triol (IV) 1,14; Pregnan-3α, 17α, 20α-triol-11-on (V) 0,24; Pregnan-3α, 11β, 17α, 20α-tetrol (VI) 0,1. Die Steroide werden auf den getrockneten Chromatogrammen nach der Methode von S. Goldberg und M. Finkelstein[2] bzw. M. Finkelstein und R. I. Cox[3] mit 70%iger Phosphorsäure lokalisiert. Nach dem Erhitzen haben sie folgende Farben im Tageslicht und Fluorescenzfarben im UV-Licht bei 366 mμ: I purpur und rosa; II purpur und violettrosa; III purpur und gelb; IV purpur und rosabraun; V keine Farbe und blauviolett; VI purpur und rosa. Die Nachweisgrenze beträgt 1—2, bei III 2—4 und bei V 0,3—0,6 μg/cm². Man kann die Steroide im Papierchromatogramm auch direkt quantitativ bestimmen, wenn man das Chromatogramm vor einer Behandlung mit Phosphorsäure in kleine Abschnitte zerschneidet und diese nach R. I. Cox[4] mit Perjodat behandelt. Die Menge abgespaltenen Acetaldehyds („acetaldehydogene Steroide") ist ein Maß für das ursprünglich im Papierabschnitt vorhandene 17,20-Dihydroxy-20-methylsteroid. Auf diese Weise lassen sich auf dem Papier noch 2 μg Steroid quantitativ bestimmen.

[1] Nature (London) **181**, 638—639 (1958). Dep. Veterinary Physiol., Univ. Sydney (Australien). — [2] Bull. Res. Council. Israel, **5A**, 310 (1956). — [3] Proc. Soc. exp. Biol. Med. **95**, 297 (1957). — [4] Biochemic. J. **52**, 339 (1952); vgl. diese Z. **143**, 396 (1954). H. Pelzer

Eine colorimetrische Bestimmungsmethode der Acetylcholinesterase-Aktivität, die darauf beruht, daß Indophenylacetat bei p_H 8,0 von der Acetylcholinesterase unter Bildung eines gefärbten Produktes hydrolysiert wird, wird von D. N. KRAMER und R. M. GAMSON[1] beschrieben. Das rotgelbe Indophenylacetat geht dabei in das blaurote Indophenylat über. Die Reaktion ist p_H-abhängig. Ein charakteristisches Maximum liegt bei 625 mμ bei p_H 8. Die optimale Substratkonzentration beträgt $6 \cdot 10^{-4}$ Mol. Das Ferment braucht mindestens 15 min, bei geringeren Aktivitäten 1—2 Std, um voll wirksam zu werden. Die Anwesenheit von 1% Alkohol, $3 \cdot 10^{-6}$ und $1{,}6 \cdot 10^{-5}$ m Indophenylatlösungen und Albumin im Reaktionsgemisch beeinflußt die Aktivität des Fermentes nicht. — *Ausführung. Reagentien.* 1. Puffer von p_H 8 aus 46,80 ml 0,1 n Natronlauge und 50 ml 0,1 m KH_2PO_4-Lösung zu 100 ml aufgefüllt. 2. Fermentlösung aus Rindererythrocyten-Cholinesterase in Pufferlösung, der 0,4% kristallisiertes Rinderplasma-Albumin zugesetzt wird. In 1 ml der Lösung sollen 50 Fermenteinheiten enthalten sein. 3. Indophenylacetatlösung (0,375 g in 25 ml Äthanol). 0,2, 0,5, 1,0 und 2,0 ml dieser Lösung, zu 5 ml aufgefüllt ergeben Substratkonzentrationen von $2{,}5 \cdot 10^{-5}$, $6{,}2 \cdot 10^{-5}$, $1{,}3 \cdot 10^{-4}$ und $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ mol. — Alle Lösungen werden zunächst auf 20° C temperiert. Dann ergänzt man 0,1 ml Indophenylacetatlösung mit Pufferlösung auf 5 ml, fügt einen aliquoten Teil der Enzymlösung (mit 25—150 Einheiten) hinzu und füllt mit Pufferlösung auf 10 ml auf. 15 min nach dem Enzymzusatz mißt man die Absorption bei 625 mμ im Beckman-Spektrophotometer Modell DU.

[1] Analyt. Chemistry **30**, 251—254 (1958). Army Chem. Center, Md. (USA).

URSULA BAUMANN

Eine Methode zur Bestimmung von Nucleasen mit dem Lochplattentest gibt H. HEINECKE[1] an. Die Methode beruht darauf, daß Ribonucleinsäure (RNS)-Agarlochplatten in den Löchern mit Ribonuclease beschickt und bebrütet werden, die nicht hydrolysierte RNS mit 0,5 n Salzsäure gefällt und dann der Verdauungsringdurchmesser gemessen wird, der eine Funktion der Ribonucleaseaktivität ist. — *Ausführung.* Man stellt mit Veronal-Acetatpufferlösung [0,014 m Natriumacetat und 0,014 m Veronalnatrium (1:1) p_H 7,0] eine 3%ige RNS-Lösung her, setzt 2% Agar zu, löst 30 min in geschlossenem Gefäß in Wasserdampfatmosphäre über siedendem Wasser (p_H-Kontrolle), filtriert (1,5 Std) und sterilisiert 35 min im Autoklaven bei 120° C. Mit 20 ml dieses RNS-Agars gießt man Platten von 13 cm ∅. Die Platten können bei +2° C im Kühlschrank vorrätig gehalten werden. Stanzlöcher von 9 mm ∅ beschickt man mit 0,05 ml der zu prüfenden RN-aselösung und bebrütet 16 Std bei 37° C. Zur Ausfällung der nicht verdauten RNS übergießt man die Platte mit 20 ml 0,5 n Salzsäure, die 10 min über dem Agar verbleibt. Auf halblogarithmischem Papier trägt man die Meßwerte auf, und zwar auf die logarithmische Ordinate die Enzymkonzentration, die zwischen 7,8 und 250 μg/ml liegen soll, und auf die isometrische Abszisse die Verdauungshöfe in Millimeter. Als Standard benutzt man kristallisiertes Ferment stets in zwei Konzentrationen[2,3] (60 und 15 μg/ml). Durch Anwendung der Korrektur nach E. SPEYER[4] können Plattenunregelmäßigkeiten ausgeschlossen werden.

[1] Z. Naturforsch. **12b**, 527—530 (1957). Akad. Wiss., Inst. Mikrobiol. exp. Therapie, Jena. — [2] BLISS, C. J.: The Statistics of Bioassay, New York 1952. — [3] FINNEY, D. J.: Statistical Methods in Biological Assay, London 1952. — [4] Arzneimittel-Forsch. **3**, 309 (1953).

E. MÜLLER, Würzburg